

Über das Pterinmuster der Facettenaugen  
von *Calliphora erythrocephala*

Ein Beitrag zur Funktion und Stabilität  
der Pterine

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Ursula Patat

aus München

November 1964

1965

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG, Würzburg

Berichterstatter: Prof. Dr. H. AUTRUM

Prof. Dr. A. KAESTNER

Tag der mündlichen Prüfung: 24. 2. 1965



Sonderdruck

aus Z. vergl. Physiologie, Bd. 51, Heft 2, S. 103—134 (1965)

Springer-Verlag, Berlin · Heidelberg · New York

Aus dem Zoologischen Institut der Universität München

ÜBER DAS PTERINMUSTER DER FACETTENAUGEN  
VON *CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA*

EIN BEITRAG ZUR FUNKTION UND STABILITÄT DER PTERINE

Von

URSULA PATAT\*

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. Juni 1965)

### I. Einleitung

Das Facettenauge war in den letzten zehn Jahren hauptsächlich Gegenstand elektrophysiologischer Untersuchungen (Zusammenfassungen: AUTRUM, 1960, 1961a). Doch leistete auch die physiologisch-chemische Analyse der Augen wichtige Beiträge zur Aufklärung ihrer Funktion. LANGER (1960a) untersuchte am Beispiel von *Calliphora erythrocephala* den chemischen Grundaufbau der Augen und prüfte in weiteren Arbeiten die Wirkung von Licht auf den Chemismus der Facettenaugen (1960b, 1962, 1963). Dabei zeigte sich zur Zeit des Sehvorganges ein erhöhter, energieerzeugender Grundstoffwechsel, durch den die für die Reizverarbeitung und Erregungsbildung des Sinnesorgans nötige Energie bereitgestellt wird.

Die Frage nach den Primärprozessen der Reiztransformation in der Sinneszelle wurde durch einige Untersuchungen der Sehfärbstoffe in Facettenaugen verfolgt. Es ließen sich Rhodopsin-ähnliche Verbindungen bei Krebsen (KAMPA, 1955; WALD und HUBBARD, 1957; FISCHER und GOLDIE, 1959) und zahlreichen Insektenarten (GOLDSMITH, 1958; WOLKEN, BOWNESS und SCHEER, 1960; BRIGGS, 1961; WOLKEN und SCHEER, 1963) nachweisen, so daß die Vermutung nahe liegt, daß die Primärprozesse im Facettenauge und in der Retina des LinsenAuges grundsätzlich ähnlich sind. Eine weitere Bestätigung erfuhr diese Annahme durch die Isolierung von Vitamin A<sub>1</sub> aus Bienenköpfen, dessen Menge abhängig ist vom Gehalt an Retinin<sub>1</sub> und somit abhängig vom Adaptationszustand der Bienen (GOLDSMITH und WARNER, 1964).

Zahlreiche Untersuchungen liegen über die beiden im Facettenauge vorkommenden Farbstoffgruppen, die Ommochrome und Pterine, vor.

\* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

Herrn Prof. Dr. H. AUTRUM danke ich für die Überlassung des Themas und das Interesse an meiner Arbeit, Herrn Privatdozent Dr. H. LANGER für Anregungen bei der Durchführung dieser Arbeit. Die Untersuchungen wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft gefördert.

Schon BECKER (1942) und vor allem BUTENANDT und seine Schüler befaßten sich mit der Konstitutionsermittlung der Ommochrome und ihrer Verbreitung bei Arthropoden (BUTENANDT, Zusammenfassung: 1957; BUTENANDT et al., 1958a, 1958b, 1960; LINZEN, 1958).

Der Gehalt an Pterinen in den Köpfen verschiedener Insekten wurde vor allem zur Analyse von Genwirkungen untersucht, da sich Mutationen von Augenfarbgenen besonders stark auf diese Stoffgruppe auswirken, die durch ihr Fluoreszenzvermögen auf einfache Weise nachgewiesen werden kann (HADORN und MITCHELL, 1951; HADORN und KÜHN, 1953; REISENER-GLASEWALD, 1956; MÖHLMANN, 1958; HADORN und ZIEGLER, 1958; ZIEGLER und HADORN, 1958; NOLTE, 1959a—c; ZIEGLER, 1961b). Gleichzeitig wurden auf dem Gebiet der Pteridin-Chemie große Fortschritte erzielt, die zur Konstitutionsaufklärung zahlreicher, im Tier- und Pflanzenreich vorkommender Pterine führten (Zusammenfassungen: FORREST, 1962; PFLEIDERER, 1963).

Dabei wurden auch einige Pterinverbindungen in den Augen von *Ephestia* (EGELHAAF, 1956, 1963) und vor allem von Dipteren bekannt (AUTRUM und LANGER, 1958; HADORN und ZIEGLER, 1958; ZIEGLER und HADORN, 1958; ZIEGLER, 1956, 1960, 1961a, 1963b; BOWNESS und WOLKEN, 1959; WOLKEN, BOWNESS und SCHEER, 1960), die starke Photolabilität bei Lichteinwirkung zeigen. Deshalb wurde ihnen vielfach, schon bevor ihre Struktur aufgeklärt war, eine Beteiligung am Sehprozeß zugeschrieben (FORREST und MITCHELL, 1954a; EGELHAAF, 1956). So sollten sie infolge ihres Absorptionsmaximums bei 360 m $\mu$  für die Empfindlichkeit der Insektenaugen bei Bestrahlung mit ultravioletterem Licht verantwortlich sein. Dabei bestand die Vorstellung, daß das durch ultravioletteres Licht erzeugte Fluoreszenzlicht der Pterine an der Erregungsbildung beteiligt sei. ALBERT (1956) hingegen wies auf die Möglichkeit hin, daß die Photoreduktion der Pterine mit nachfolgender enzymatischer Oxydation einen Zyklus darstellen könnte, der unmittelbar mit dem Sehprozeß verknüpft wäre.

In der Zwischenzeit wurden diese Theorien jedoch einerseits durch den schon erwähnten Nachweis Rhodopsin-ähnlicher Verbindungen in Insektenaugen und andererseits durch die Ergebnisse elektrophysiologischer Untersuchungen hinfällig, die an *Calliphora erythrocephala* und den Augen zweier Mutanten durchgeführt wurden, denen das eine oder beide Augenpigmente fehlen (HOFFMANN und LANGER, 1961; BURKHARDT und HOFFMANN, 1961; BURKHARDT, 1962). Dabei zeigte sich, daß die Aktionspotentiale des Gesamtauges in denjenigen Spektralbereichen überhöht sind, in denen den Ommatidien die Pigmente fehlen. Das bedeutet also, daß die Wirksamkeit des ultravioletten Lichtes im pterinfreien Auge höher ist als im pterinhaltigen. Damit war gezeigt, daß den Pterinen analog den Ommochromen eine Schutzwirkung im

ultravioletten Bereich des Spektrums zukommen dürfte, denn die erhöhte Reizwirksamkeit im pigmentlosen Auge ließ sich als Folge einer solchen fehlenden Filterwirkung erklären.

Dennoch bleibt aber die Frage nach der Funktion der Photolabilität der Pterine im Insektenauge bestehen, da schwer verständlich ist, warum „Schutz- und Filterpigmente“ photolabil sein sollen. Zudem zeigte sich, daß die photolabilen Augenpterine Sepiapterin (NAWA, 1960) und Tetrahydrobiopterin (ZIEGLER, 1960) in nativer Form hydriert vorliegen und die eigentlichen stoffwechselaktiven Pterinverbindungen darstellen (ZIEGLER, 1961b, 1963a). Aus diesem Grunde scheint eine neben der Filterwirkung vorhandene Funktion der hydrierten Pterine wahrscheinlich, zumal die stoffwechselinaktiven Pterine, die nach ihrem chemischen Verhalten besser die Aufgabe von „Filter“-Pigmenten erfüllen könnten, in gleicher Weise die Schutzwirkung im ultravioletten Licht gewährleisten.

Diese Fragestellung ist Inhalt der vorliegenden Arbeit. Dazu werden am Beispiel eines Vertreters der Dipteren nach einer qualitativen und quantitativen Analyse der Augenpterine hauptsächlich Versuche beschrieben, die das Augenpterinmuster durch Veränderung äußerer Faktoren zu beeinflussen vermögen. Sie dienen dazu, Hinweise auf die mögliche Funktion der photolabilen, stoffwechselaktiven Pterine in den Augen zu erhalten.

## II. Material und Methode

Die Versuche wurden an einem Wildstamm von *Calliphora erythrocephala* und an dessen Mutanten „white-apricot“ (TATE, 1947) und „chalky“ (LANGER und PATAT, 1961) durchgeführt, die aus institutseigenen Zuchten stammten. Die Entwicklungsdauer der Fliegen beträgt bei einer Zuchttemperatur von 25° C durchschnittlich 21 Tage. Damit ist ein gleicher Schlüpftermin für die Mehrzahl der Imagines eines Zuchtstammes gegeben, der hauptsächlich auf die Morgenstunden beschränkt ist. Die Fliegen wurden in Käfigen von 50×30×30 cm Größe bei Zimmertemperatur und Standardfutter (vgl. LANGER, 1960a) gehalten. Für die altersabhängigen Pterinanalysen wurden verfrüht oder verspätet schlüpfende Fliegen von dem Hauptteil der Zucht getrennt, so daß die Tiere eines Käfigs ein bis auf wenige Stunden übereinstimmendes Alter aufwiesen. Um in diesen Fällen auch völlig konstante Außenbedingungen zu gewährleisten, wurden die Fliegen vom Schlüpftermin an in einer Klimakammer gehalten (21° C, 50–60% relative Luftfeuchtigkeit, Tagesbeleuchtung mit einer 15-Watt-Glühlampe im Zuchtkasten, nachts Dunkelheit). Die Versuchstiere befanden sich gewöhnlich im Alter von 2–3 Wochen, da in dieser Zeit die stoffliche Zusammensetzung der Augen relativ stabil ist (LANGER, 1960a).

Zur Pterinanalyse der Augen wurde nach der Dekapitation der Fliegen den Köpfen nur der vorgezogene Rüssel an der Basis abgetrennt. Auf die Präparation der Augen konnte verzichtet werden, da sich ähnlich wie bei verschiedenen Lepidopteren-Arten (REISENER-GLASEWALD, 1956; GROSSBACH, 1958) und *Drosophila* (HADORN und ZIEGLER, 1958) in Vorversuchen keine meßbaren Mengen fluoreszierender Substanzen in den übrigen Kopfteilen feststellen ließen.

Als Extraktionsmittel kam ein leicht essigsäures Methanol-Wasser-Gemisch (80% Methanol, 18% Aq. dest., 2% Eisessig) zur Anwendung, das eine schonende und selektive Pterinextraktion ermöglichte. Damit wurde sowohl die Lösung der Ommochrome als auch die Bildung ihrer Zersetzungsprodukte vermieden, die bei der Chromatographie stören.

Die Aufarbeitung des Versuchsmaterials erfolgte wegen der Empfindlichkeit der Pterine nach einem festgelegten Schema. Im allgemeinen bestand ein Ansatz aus 12 Fliegenköpfen, wodurch bereits im einzelnen Versuch über die individuellen Schwankungen der Fliegen gemittelt wurde. Sämtliche Arbeiten wurden bei Rotlicht durchgeführt, die Extraktion bei 4° C im Kühlraum. Zur vollständigen Extraktion der Pterine wurde der Extrakt nach der Homogenisation der Köpfe für eine Mindestzeit von 20 min im Dunkeln stehen gelassen und anschließend bei 8000 U/min zentrifugiert, bis sich ein klares Eluat ergab.

Zur Chromatographie kam gewöhnlich diejenige Extraktmenge (0,05 ml), die dem Pteringehalt eines Kopfes entsprach. Sie wurde punktförmig im Kaltluftstrom aufgetragen. Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte immer auf Papier Schleicher-Schüll 2043 bm in einem aufsteigenden System bei Dunkelheit und Temperaturkonstanz ( $21 \pm 0,5^\circ$  C). Zur Trennung der photolabilen Pterine in den Serienversuchen diente die eindimensionale Chromatographie. Dabei ergaben aus der Reihe der bekannten Gemische (vgl. HADORN und KÜHN, 1953; ZIEGLER, 1956) nur Methanol/konz. Ammoniak/Wasser (70:4:26) und vor allem Äthanol/Butanol/konz. Ammoniak/Wasser im Verhältnis von 50:15:5:30 die gewünschte Trennung der photolabilen Pterine, weshalb das letztere Gemisch für die Mehrzahl der Versuche verwendet wurde. Die Laufzeit der Chromatogramme betrug in diesem System  $6\frac{1}{2}$  Std, womit eine durchschnittliche Lösungsmittelfront von 18 cm erreicht wurde. Danach wurden sie im Dunkeln bei Zimmertemperatur getrocknet und die Fluoreszenzmessung unmittelbar angeschlossen. Längeres Aufbewahren der Chromatogramme hatte nämlich erfahrungsgemäß selbst im Dunkeln eine Veränderung der Fluoreszenzintensitäten der hydrierten Pterine zur Folge.

Die zweidimensionale Chromatographie kam nur zur Identifizierung von Pterinen und zur Prüfung ihrer Einheitlichkeit zur Anwendung. Dabei wurden vorhandene Vergleichssubstanzen nach LINSKENS (1959) als sogenannte „Leitchromatogramme“ aufgetragen. Als Systeme dienten in der 1. Phase n-Propanol/1%iger Ammoniak (2:1) und in der 2. Phase wassergesättigtes Collidin oder in entsprechender Weise Äthanol/Butanol/Ammoniak/Wasser (50:15:5:30) und Butanol/Eisessig/Wasser (20:3:7).

Die qualitative Identifizierung der chromatographierten Pterine erfolgte aufgrund ihrer Fluoreszenzfarbe und  $R_F$ -Werte. Zur Fluoreszenzanregung diente eine Analysen-Quarzlampe, deren spektrale Emission entsprechend dem Absorptions-Maximum der Pterine im nahen Ultraviolett auf den Bereich um 360 m $\mu$  gefiltert wurde.

Die quantitative Auswertung der Pterine erfolgte direkt vom Papier mit Hilfe eines Fluorometers nach KÜHN (1955), das ein kontinuierliches Abtasten längerer Chromatogrammstreifen erlaubt. Da das Sperrfilter für nicht absorbiertes Erregerlicht, G 10 nach KÜHN, nicht erhältlich war, wurde das 1 mm dicke Schottglas GG 10 verwendet, das im späteren Verlauf der Arbeit durch ein weiteres Filter (GG 4, 1 mm) ergänzt wurde. Die Gesamtfluoreszenz eines Fleckes wurde durch Planimetrieren der aus den Meßwerten gewonnenen Kurven bestimmt, wobei der „Papierfluoreszenzwert“ abgezogen wurde. Der für Mengenvergleiche einer Substanz notwendige Zusammenhang zwischen Stoffquantität und Fluoreszenzintensität des Fleckes erwies sich für diejenigen Intensitäten als linear, die in den vorliegenden Versuchen eine Rolle spielen.

Der methodische Fehler von Chromatographie und Fluoreszenzmessung wurde nach GEBELEIN und HEITE (1951) ermittelt. Mit der Fehlerstreuung  $s = \pm 0,72$  ergab sich bei einer aus 31 Doppelbestimmungen berechneten, mittleren Gesamtpterinfluoreszenz von  $14,7 \text{ cm}^2$  ein durchschnittlicher, methodischer Fehler von  $\pm 4,9\%$ . In entsprechender Weise erfolgte die Fehlerbeurteilung bei 28 Doppelversuchen, die jeweils aus zwei Versuchsansätzen mit gleichaltrigem Tiermaterial desselben Zuchtansatzes bestanden, die in gleicher Weise aufgearbeitet wurden. Damit wurde sowohl der durch das angewandte Aufbereitungsverfahren gegebene methodische Fehler erfaßt als auch die biologische Streuung zwischen zwei Versuchsansätzen. Bei  $s = \pm 0,86$  betrug der methodische Fehler  $\pm 5,9\%$  bezogen auf eine mittlere Pterinfluoreszenz von  $14,8 \text{ cm}^2$ . Er ist also nur um  $\pm 1\%$  größer als der oben angegebene, chromatographische Fehler.

Zur statistischen Beurteilung der Versuchsergebnisse wurde die auftretende Differenz zwischen den arithmetischen Mittelwerten zweier Meßreihen mit der Nullhypothese (PÄTAU, 1943) auf ihre Sicherung geprüft. Mit  $P$  kleiner als 0,01 gilt die Differenz als statistisch gesichert. Zur Bestimmung der Streuung in einer Reihe von Einzelwerten, bezogen auf das arithmetische Mittel, wurde die mittlere Abweichung ( $\sigma$ ) berechnet (WEBER, 1948).

Die Bestrahlungsversuche wurden im sichtbaren Bereich des Spektrums nach LANGER (1960b) mit einer 500-Watt-Projektionslampe durchgeführt, deren Licht mit Hilfe von Wärmeschutzfiltern (Calfex-Glas und eine Küvette von 5 cm Schichtdicke mit 2%iger Kupfersulfatlösung) auf den Bereich von 400–750  $m\mu$  gefiltert wurde. Das Strahlenbündel wurde über einen Spiegel auf eine runde Glasschale (Durchmesser 5 cm) geworfen, die als Tierkäfig diente und so flach war, daß die Tiere nicht übereinander liefen. Als Verschuß wurde ein Deckel aus Plexiglas (Durchlässigkeit 90%) verwendet. Kleine Öffnungen am Rande der Schale sicherten den Luftaustausch. Für die Bestrahlung im ultravioletten Teil des Spektrums dienten ein Quecksilber-Brenner (Typ NN 15/44 VK, „Hanau“), der ein Mischlicht mit vorwiegend kurz- und langwelligen ultravioletten Anteilen von 254 bis 436  $m\mu$  emittierte und eine Quecksilber-Höchstdrucklampe (Osram HBO 200 im Lampengehäuse von Zeiss), deren Emission mit einem 4 mm dicken UG2-Filter von Schott auf den Bereich von 300–400  $m\mu$  beschränkt wurde. Als Tierkäfige dienten in beiden Fällen flache Gefäße, die mit weitmaschigem Drahtgeflecht verschlossen wurden.

Die vergleichende Intensitätsmessung der Bestrahlungsapparaturen wurde mit einer Thermosäule durchgeführt. Sie ergab für die drei Leuchten ein Verhältnis der auf die Tiere eingestrahlten Energie von 3,9:1,7:1, wobei die Leuchte des sichtbaren Lichtes die größte Strahlungsdichte und diejenige des langwelligen UV-Lichtes die geringste Intensität besaß. Aus diesen Werten folgt ein Verhältnis der Bestrahlungszeiten von 1:2,3:3,9. Für die energieggleichen Bestrahlungen, die auf die vierstündige Strahlung der Leuchte des sichtbaren Lichtes bezogen wurden, errechneten sich somit Bestrahlungszeiten von  $9\frac{1}{4}$  Std für den UV-Brenner und  $15\frac{1}{2}$  Std für die Leuchte des langwelligen ultravioletten Lichtes.

In photochemischer Sicht wäre ein Bezug auf eingestrahlte Quanten richtiger. Die Leuchte des sichtbaren Lichtes sendet praktisch ein Kontinuum aus. Da das im Auge von *Calliphora* vorkommende Sepiapterin nur bis 480  $m\mu$  absorbiert (LANGER und PATAT, 1961), wird als mittlere Wellenlänge der absorbierten Quanten 440  $m\mu$  angenommen. Bei der selektiven Quecksilberleuchte, deren Strahlung auf den Bereich des nahen Ultravioletts beschränkt wurde, stammen die absorbierten Quanten vom Licht der Hg-Linie von 366  $m\mu$ . Da  $E = n_1 h \nu_1 = n_2 h \nu_2 = n_1 h \frac{c}{\lambda} = n_2 h \frac{c}{\lambda}$  ist, ergibt sich das Verhältnis der Zahl der Quanten  $n$  zu  $\frac{n_1}{n_2} = \frac{\nu_2}{\nu_1} = \frac{\lambda_1}{\lambda_2}$ .

Bei  $\lambda = 366 \text{ m}\mu$  werden also 17% weniger Quanten bei gleicher Energie ausgestrahlt als bei  $\lambda = 440 \text{ m}\mu$ .

Da aber nicht festliegt, ob sich an den mit Quantenausbeute  $\varphi = 1$  erfolgenden Absorptionsschritt (Primärschritt) die gleichen Folgereaktionen anschließen, wurde der Unterschied von 17% in der Zahl der durch die beiden Leuchten eingestrahnten Quanten nicht weiter berücksichtigt.

Speziell bei dem ungefilterten Quarzbrenner führte das dazukommende kurzwellige Ultraviolett von 254–300  $\text{m}\mu$  zusätzlich zur Zerstörung des Tiermaterials, so daß sich jeder Energievergleich als unmöglich erweist.

Die Gefriertrocknung der Köpfe von *Calliphora* wurde in einer Gefriertrocknungsanlage „Texvac“ (Typ IIA/451; „Textor“) durchgeführt. Die Kopfkapseln wurden durch teilweises Entfernen der Hinterplatte geöffnet, so daß die Dampf-abgabe besser erfolgen konnte. Die Kühlmischung hatte eine Anfangstemperatur von  $-20^\circ \text{C}$ , die während der Trocknungsdauer von 30 Std allmählich auf  $-10^\circ$  bis  $-5^\circ$  anstieg.

### III. Versuchsergebnisse

#### 1. Quantitative Analyse des Augenpterinmusters der Wildform und *W*-Mutante von *Calliphora*

Bisher wurden zwei Augenfarbmutanten von *Calliphora* beschrieben. Die Mutante *chalky* (*c*) weist in beiden Geschlechtern rein weiße Augen auf. Qualitative Versuche, über die bereits berichtet wurde (LANGER und PATAT, 1961), zeigten, daß diese Augenfarbänderung auf dem völligen Ausfall beider Augenpigmente, der Ommochrome und Pterine beruht. Im Falle der Mutante *white-apricot* (*w*) aber wird das Gen geschlechtsgebunden und geschlechtsbegrenzt vererbt (TATE, 1947). Es bewirkt nur im weiblichen Auge den fast völligen Ausfall des roten Xanthommatins (HANSER, 1959; BUTENANDT et al., 1960). Das Augenpterinmuster der *w*-Mutante entspricht hingegen völlig demjenigen der Wildform (LANGER und PATAT, 1961).

Nachdem diese qualitativen Befunde in Übereinstimmung mit ZIEGLER (1961a) außerdem darauf hingewiesen hatten, daß die Imaginalaugen beider Augenfarbtypen im wesentlichen die photolabilen Verbindungen Sepia- und Tetrahydrobiopterin als native Pterine enthalten, wurde die quantitative Zusammensetzung des Augenpterinmusters untersucht.

Bei der fluorometrischen Messung der Chromatogrammstreifen wurden folgende drei Pterinverbindungen getrennt erfaßt:

1. Fleck: er enthält Pterin-6-carbonsäure, das Zerfallsprodukt der beiden hydrierten, photolabilen Verbindungen; im weiteren Text als „Fleck Blau“ bezeichnet,
2. Fleck: Sepiapterin,
3. Fleck: Tetrahydrobiopterin.

Das fluorometrische Verhalten der beiden hydrierten Pterine ist unterschiedlich infolge des verschiedenen, zeitlichen Verlaufs ihrer Photo-reaktion (ZIEGLER, 1956, 1960). Die Fluoreszenz des Sepiapterins

verändert sich während des Meßvorganges nicht. Dagegen zeigt das ursprünglich nicht fluoreszierende Tetrahydrobiopterin bei Einwirkung des Erregerlichtes eine starke Fluoreszenzzunahme. Diese rasch verlaufende Photooxydation ist innerhalb von höchstens 60 sec abgeschlossen (ZIEGLER, 1960, 1963 a). Damit ist ein stabiler Endwert erreicht, der auf der Fluoreszenzintensität des Photolyseproduktes Pterincarbonsäure beruht und als ein reproduzierbares Maß für die Menge der Tetrahydroverbindung den folgenden Meßergebnissen zugrunde liegt.

#### a) Gesamtpterinmenge der Augen

Abb. 1 bringt die Ergebnisse. Sie zeigt, daß beide Geschlechter der *w*-Mutante einen um 17% geringeren Pteringehalt aufweisen als diejenigen der Wildform. Diese Differenz ist statistisch sehr gut gesichert ( $P < 0,0002$ ). Außerdem überwiegt der Pteringehalt bei beiden Genotypen in den männlichen Köpfen um 34%. Die Pterinmenge des männlichen Auges verhält sich also zu derjenigen des weiblichen Auges wie 3:2 (Verhältniszahl 1,5).

Nach den chemischen Analysen des Facettenauges der Wildform verhalten sich die meisten der in den Augen männlicher und weiblicher Fliegen ermittelten Substanzmengen — entsprechend dem Gewichtsunterschied der Augen — wie 6:5 (Verhältniszahl 1,2; LANGER, 1960 a).

Einen Geschlechtsunterschied zeigte bisher nur der Zuckergehalt, der nach der ersten Lebenswoche in den weiblichen Augen stark überwiegt, wodurch die Verhältniszahl auf einen Wert unter 1 absinkt. Ebenso stellt der Pteringehalt mit der Verhältniszahl 1,5 einen Geschlechtsunterschied dar, der sich aber in entgegengesetzter Weise auswirkt.

#### b) Relative Anteile der einzelnen Augenpterine an der Gesamtpterinmenge

Berechnet man für Männchen und Weibchen der beiden Genotypen die prozentualen Anteile der drei getrennt erfaßten Pterinverbindungen

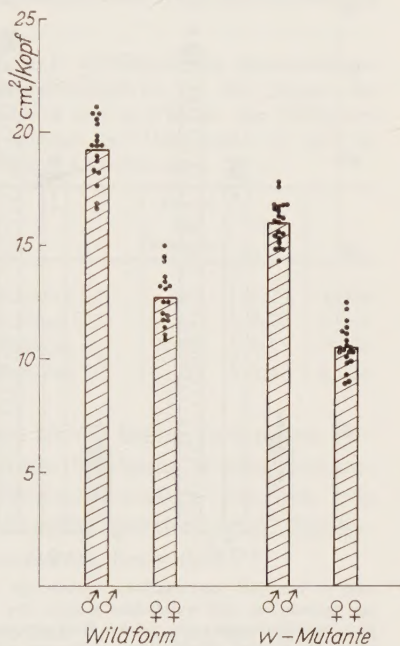


Abb. 1. Vergleich der Gesamtpterinmenge aus männlichen und weiblichen Köpfen der Wildform und *w*-Mutante von *Calliphora*. Ordinate: Fluoreszenzintensität in  $\text{cm}^2$ . Die Meßpunkte entsprechen der Pterinmenge eines Kopfes von 2—3 Wochen alten Fliegen. Die Höhe der Säulen gibt die mittlere Pterinfluoreszenz an

an der Gesamtpterinmenge der Augen, so zeigen die Prozentwerte für beide Geschlechter der Wildform und für das Männchen der *w*-Mutante ein übereinstimmendes Bild (Abb. 2). Nur die hellgelb gefärbten Augen des Weibchens der *w*-Mutante weisen Unterschiede in der prozentualen Zusammensetzung ihres Gesamtpterins auf.

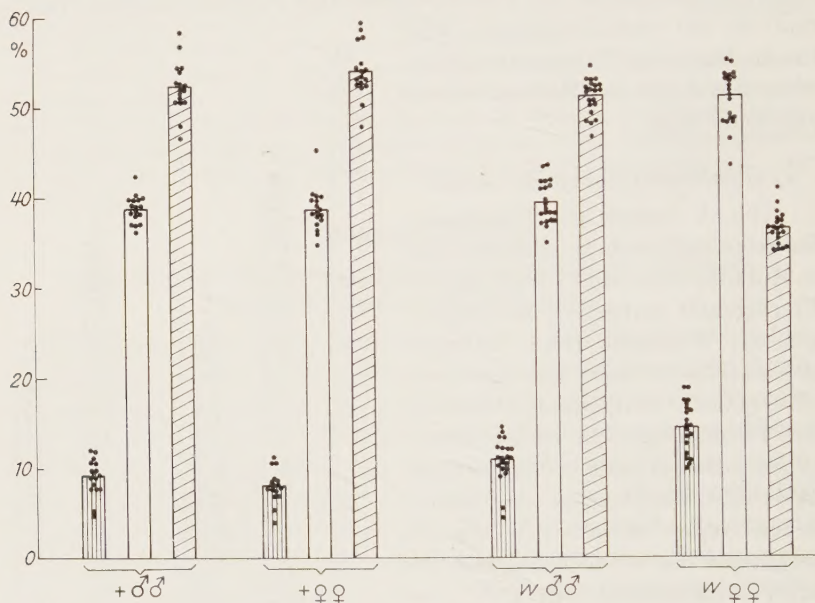


Abb. 2. Vergleich der relativen Anteile der drei Pterinverbindungen an der Gesamtpterinmenge aus männlichen und weiblichen Köpfen der Wildform und *w*-Mutante von *Calliphora*. Ordinate: Fluoreszenzintensität in % der Gesamtpterinmenge. Die Relativwerte (ausgefüllte Kreise) der einzelnen Pterine (Fleck Blau: senkrecht schraffierte Säulen, Sepiapterin: weiße Säulen, Tetrahydrobiopterin: schräg schraffierte Säulen) entsprechen den Meßwerten aus je einem Fliegenkopf der dritten Lebenswoche. Die relativen Mittelwerte sind durch die Höhe der Säulen dargestellt

Die Relativwerte der Pterine in den Ommochrom-führenden Augen zeigen, daß weder geschlechtsbedingte noch genotypisch bedingte Unterschiede vorhanden sind. Unabhängig von der im Auge vorhandenen Absolutmenge weisen sie also auf ein in allen untersuchten, Ommochromhaltigen Augen vorhandenes, konstantes Verhältnis der drei Augenpterine hin. In Zahlen ausgedrückt beträgt nach Abb. 2 das Verhältnis von Fleck Blau:Sepiapterin:Tetrahydrobiopterin im Mittel 1:4:5.

Läßt man den Fleck Blau außer Betracht, der die Abbauprodukte der hydrierten Pterine darstellt, so kann der Pteringehalt eines Auges in einfacher Weise durch das Verhältnis  $Q$  der beiden photolabilen Pterine zueinander charakterisiert werden:

$$Q = \frac{\text{Sepiapterin}}{\text{Tetrahydrobiopterin}}.$$

Tabelle 1 zeigt diese Quotienten für die drei untersuchten Ommochrom-haltigen Augentypen. Sie stimmen gut überein und sind stets kleiner als 1, da die Tetrahydroverbindung im Ommochrom-führenden Auge um durchschnittlich 25% überwiegt.

Im Gegensatz dazu sind im Ommochrom-freien Auge des Weibchens der *w*-Mutante die relativen Anteile der Tetrahydroverbindung an der Gesamtpterinmenge vermindert und diejenigen des Sepiapterins erhöht (s. Abb. 2). Damit ergibt sich

im Vergleich zum Ommochrom-haltigen Auge ein annähernd umgekehrt proportionales Verhältnis der beiden photolabilen Pterine. Der Quotient *Q* in Tabelle 1 beträgt im Mittel 1,40. Außerdem ist eine geringfügige Erhöhung der relativen Mengenanteile von Fleck Blau festzustellen (Abb. 2).

Zusammenfassend ergibt sich in Präzisierung der qualitativen Analyse, daß etwa 90% der

Pterine in den untersuchten Augentypen als die beiden hydrierten Verbindungen Sepia- und Tetrahydrobiopterin bestimmt werden können. Die verbleibenden 10% stellen die Pterincarbonsäure dar, die von PFLEIDERER (1963) für ein Isolierungsartefakt gehalten wird. Infolgedessen wird ihr Vorkommen in der Natur stark bezweifelt.

## 2. Imaginale Veränderungen im Pteringehalt des Kopfes der Wildform und *W*-Mutante

Im Laufe der Untersuchungen stellte sich heraus, daß das Augenpterinmuster von *Calliphora* altersabhängige Veränderungen in seiner quantitativen Zusammensetzung zeigt. Deshalb wurde die im folgenden dargestellte imaginale Entwicklung des gesamten Pteringehaltes sowie der einzelnen Pterinverbindungen in den Fliegenköpfen untersucht.

Dazu wurden Messungen der Augenpterine vom Schlüpfstag der Fliegen an durchgeführt. Die Meßdaten, die auf Analysen aus durchschnittlich drei Generationen beruhen, sind in den folgenden Diagrammen dargestellt. Der Verlauf der quantitativen Veränderungen ist aus den jeweils abgebildeten Kurvenzügen ersichtlich. Sie stellen nach GEBELEIN und HEITE (1951) Trend-Kurven dar, deren Punkte mit  $n=3$  Zeitpunkten als gleitende Mittelwerte berechnet wurden.

### a) Veränderungen der Gesamtpterinmenge

Der Pteringehalt in den Köpfen von +- und *w*-Fliegen ist beim Schlüpfen der Tiere sehr gering (Abb. 3 und 4). Unmittelbar danach

Tabelle 1. Verhältnis von Sepiapterin zu Tetrahydrobiopterin in den Augen der Wildform und *w*-Mutante von *Calliphora*  
Angabe des Quotienten *Q* und der mittleren Abweichung  $\sigma$ .

|                      | Anzahl<br>der<br>Versuche | <i>Q</i> | $\sigma$ |
|----------------------|---------------------------|----------|----------|
| Wildform ♂♂          | 17                        | 0,75     | 0,068    |
| Wildform ++          | 17                        | 0,72     | 0,081    |
| <i>w</i> -Mutante ♂♂ | 21                        | 0,77     | 0,066    |
| <i>w</i> -Mutante ♀♀ | 20                        | 1,40     | 0,130    |

setzt aber eine starke Pterinzunahme ein, die für die hier untersuchten Fliegentypen einen übereinstimmenden, kontinuierlichen Verlauf zeigt. Diese Vermehrung ist im wesentlichen am Anfang der zweiten Lebenswoche der Fliegen abgeschlossen. Bis zu diesem Zeitpunkt hat sich der zur Schlüpfperiode vorhandene Pteringehalt auf die vier- bis fünffache Menge erhöht. Damit hat der Pteringehalt eines Kopfes das charakteristische Niveau für den betreffenden Genotyp erreicht (vgl. Abb. 1). Dieses erweist sich im weiteren Imaginalleben als nahezu konstant.

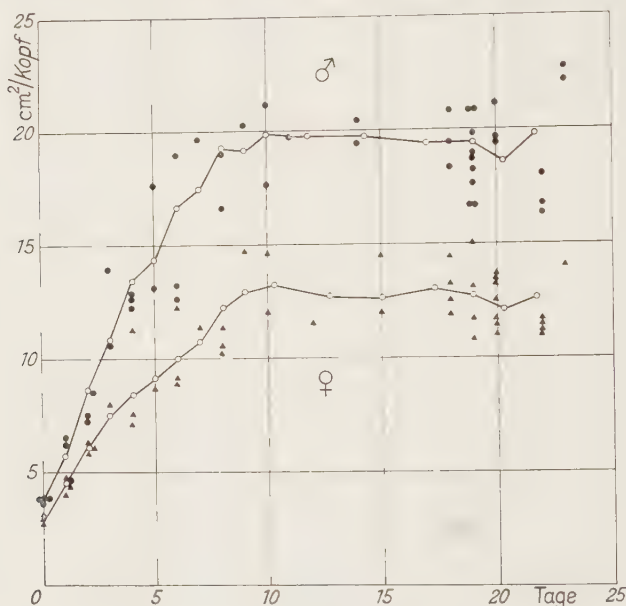


Abb. 3. Gesamtpterinmenge in männlichen und weiblichen Köpfen der Wildform von *Calliphora*

Abb. 3—8. Imaginale Veränderungen im Pteringehalt der Fliegenaugen. Die berechneten Punkte der Trendkurven sind durch leere Kreise dargestellt. Alle übrigen Zeichen entsprechen den Meßwerten von Einzelbestimmungen. Abszisse: Zeit in Tagen nach dem Schlüpfen. Ordinate: Fluoreszenzintensität im  $\text{cm}^2$  pro Kopf

### b) Veränderungen der drei Pterinverbindungen

Die in den Abb. 5—8 dargestellten Kurven zeigen, daß die beiden photolabilen Pterine für den oben besprochenen steilen Anstieg der Gesamtpterinmenge verantwortlich sind. Dabei fällt auf, daß die Zunahme der beiden Pterinverbindungen in den wildfarbigen Augen in übereinstimmender Weise erfolgt (Abb. 5—7). Einen davon abweichenden Verlauf zeigt das weibliche Auge der *w*-Mutante (Abb. 8).

Zur Zeit des Schlüpftermins treten die beiden hydrierten Pterine in den Köpfen der vier untersuchten Fliegentypen in etwa gleichen Mengen auf. Das Tetrahydrobiopterin überwiegt zu diesem Zeitpunkt

— wenn überhaupt — nur geringfügig in den Augen. Die Konzentration der hydrierten Pterine ist sehr gering. Sie beträgt rund 20–30% derjenigen Menge, die ein Kopf mittleren Imaginalalters enthält.

Die in den wildfarbigen Augen sofort nach dem Schlüpfen einsetzende Vermehrung der beiden Pterine zeigt während der ersten Imaginaltage einen annähernd parallelen Verlauf. Vom dritten Tag an wird die Kurve des Sepiapterins etwas flacher. Die Zunahme der Dihydroverbindung ist also verringert, während der steile Anstieg des Tetrahydrobiopterins noch bis zum Ende der ersten Lebenswoche anhält. Damit vergrößert sich der Mengenunterschied zwischen Sepiapterin und der Tetrahydro-

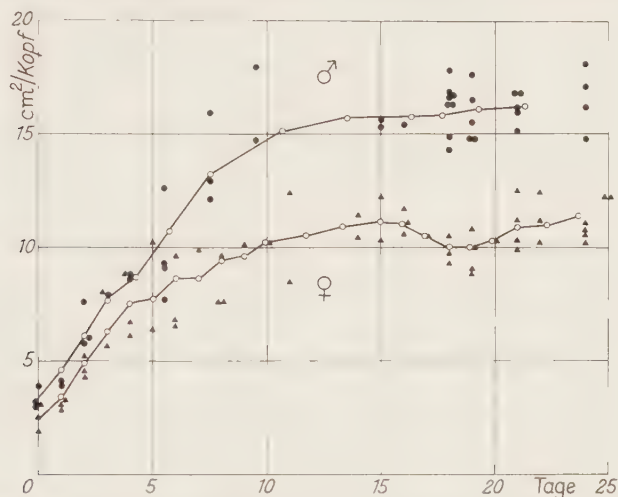


Abb. 4. Gesamtpterinmenge in männlichen und weiblichen Köpfen der *w*-Mutante von *Calliphora*

verbindung. Ihre Endkonzentration erreichen die beiden Pterine in den wildfarbigen Augen etwa am 10. Imaginaltag. Von diesem Zeitpunkt an ist die Pterinzusammensetzung des Auges relativ konstant. Damit hat sich das den wildfarbigen Augentyp kennzeichnende Verhältnis der hydrierten Pterine eingestellt (vgl. Tabelle 1).

Im weiblichen Auge der *w*-Mutante zeigt nur das Sepiapterin den sofort nach dem Schlüpftermin einsetzenden steilen Anstieg, der am Anfang der zweiten Lebenswoche zu einem starken Überwiegen der Verbindung im Auge führt. Die Vermehrung des Tetrahydrobiopterins hingegen setzt zögernd ein und zeigt einen langsamen, stetigen Verlauf, der sich über die beiden ersten Lebenswochen erstreckt. Infolge dieser unterschiedlichen Vermehrungsgeschwindigkeit weist das Mengenverhältnis der hydrierten Pterine in dieser Zeit große Schwankungen auf. Die Werte des Quotienten  $Q$  steigen beispielsweise während der maximalen Sepiapterinkonzentration in den Augen bis über 2,0 an. Erst

am Ende der zweiten Lebenswoche ist im Ommochrom-freien Auge die Stabilisierung der Pterinzusammensetzung erreicht. Von da an treten keine wesentlichen Mengenänderungen mehr auf, so daß das Verhältnis

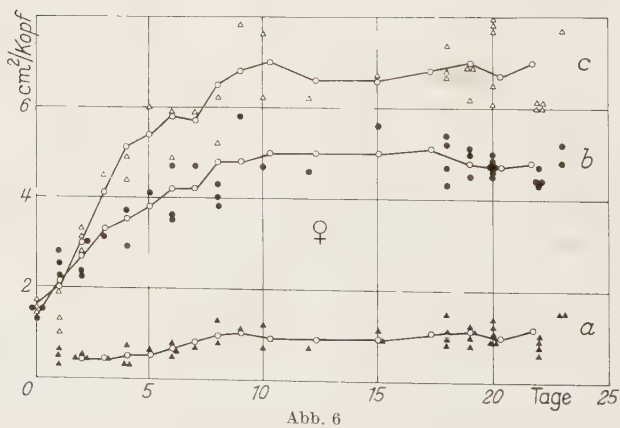
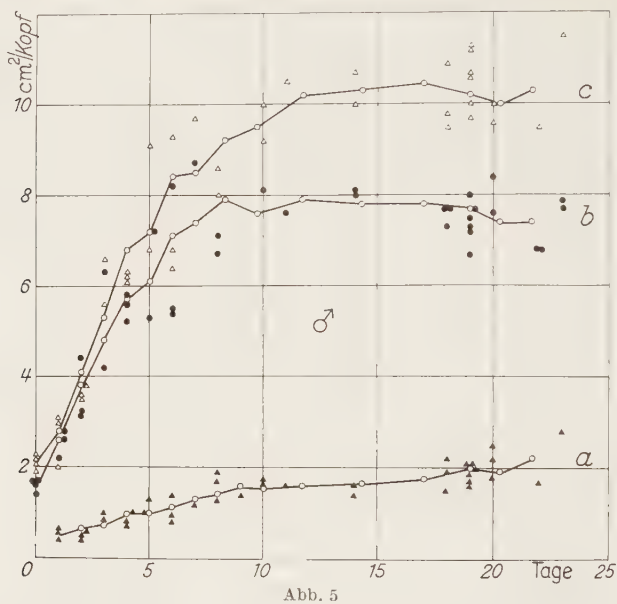


Abb. 5 u. 6. Die einzelnen Pterinverbindungen in männlichen und weiblichen Köpfen der Wildform von *Calliphora*: Fleck Blau (a), Sepiapterin (b), Tetrahydrobiopterin (c)

der hydrierten Pterine den schon besprochenen, charakteristischen Wert zeigt (vgl. Tabelle 1).

Im Gegensatz zu den photolabilen Pterinen ist der Fleck Blau in den Ommochrom-haltigen wie Ommochrom-freien Augen am Schlüpftag

nicht feststellbar (vgl. Abb. 5—8). Dieser Befund stützt die Vermutung (s. S. 111), daß die Pterincarbonensäure kein natives Augenpterin darstellt. Vom ersten Imaginaltag an ist sie in geringsten Mengen nachweisbar.

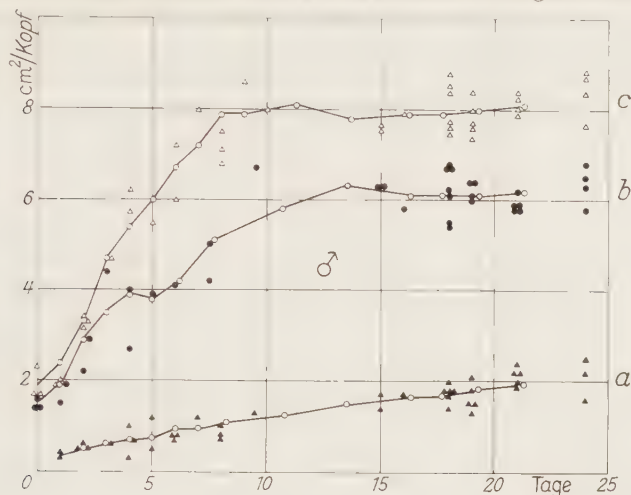


Abb. 7

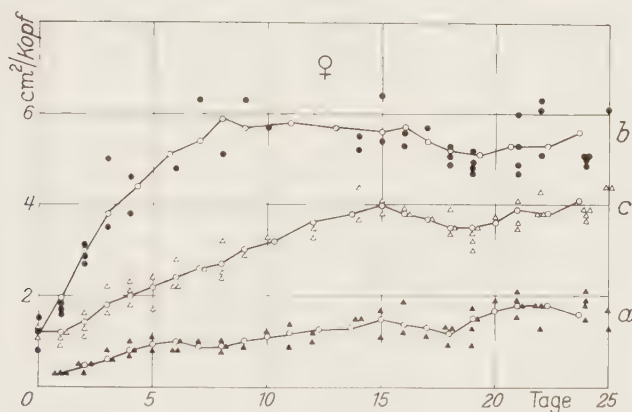


Abb. 8

Abb. 7 u. 8. Die einzelnen Pterinverbindungen in männlichen und weiblichen Köpfen der *w*-Mutante von *Calliphora*: Fleck Blau (a), Sepiapterin (b), Tetrahydrobiopterin (c)

Ihre leichte Zunahme mit der Zeit ist vermutlich die Folge der Erhöhung der photolabilen Pterine, bei deren Aufarbeitung sie als Kunstprodukt entsteht. Sobald nämlich in der zweiten Lebenswoche die für die Augen charakteristische Pterinmenge erreicht ist, zeigt auch der Fleck Blau ein ziemlich stabiles Verhalten. Auf die geringfügige, prozentuale Erhöhung des Fleckes Blau im weiblichen Auge der *w*-Mutante wird in der Diskussion näher eingegangen (vgl. Abb. 2 und 8).

### 3. Pteringehalt während der Metamorphose der Wildform, *W*- und *c*-Mutante

Extrapolierte man die in Abb. 5—8 dargestellten Trendkurven der imaginalen Pterinzunahme auf die Abszisse, so würden sich als Zeitpunkt für das erste Auftreten der Pterine in den Köpfen die letzten drei Tage der etwa zehntägigen Puppenruhe ergeben. Diese Vermutung wurde in den nachfolgend beschriebenen Versuchen geprüft. Außerdem war im Falle der *c*-Mutante von Interesse, ob die Köpfe — analog den Befunden der Imaginalzeit (s. S. 108) — auch während der Metamorphose pterinfrei sind.

Zur Präparation der Köpfe wurden die Tönnchenpuppen von *Calliphora* kurzzeitig eingefroren. Dadurch wurde ermöglicht, das dem Kopf entsprechende Vorderende des Puppenkörpers vom Verpuppungstag an abzutrennen und die Puppenhülle zu entfernen. Als vorteilhaft erwies sich, daß das Vorderende der *Calliphora*-Puppen durch eine geringe Einschnürung gekennzeichnet ist, die die Grenze zum Thorax angibt. Diese Einschnürung dürfte einem Teil der Häutungsnaht entsprechen, an der beim Ausschlüpfen der Imago mit Hilfe der Kopfkapsel ein Deckel abgesprengt wird (WEBER, 1954). Die Aufarbeitung der Puppenköpfe erfolgte in der üblichen Weise. Die Trennung der Geschlechter, die vom 6. bis 7. Puppentag an möglich ist, wurde nur bei den Puppen der *w*-Mutante durchgeführt und die Untersuchungen auf das Weibchen mit den Onimochrom-freien Augen beschränkt. Vorversuche mit Puppen der Wildform und *c*-Mutante hatten keine meßbaren Mengenunterschiede im Pteringehalt männlicher und weiblicher Köpfe ergeben, weshalb in diesen Fällen auf eine getrenntgeschlechtliche Pterinanalyse verzichtet wurde.

Die qualitative Pterinanalyse der Puppenköpfe zeigt nicht nur für die Wildform und *w*-Mutante, sondern auch für die *c*-Mutante ein übereinstimmendes Bild. Es treten hauptsächlich die beiden schon aus den Imaginalköpfen bekannten Pterine, Sepia- und Tetrahydrobiopterin, auf. Außerdem ist Biopterin in geringsten Mengen nachweisbar, das bei Chromatographie mit dem serienmäßig verwendeten, alkalischen Äthanol-Butanol-Gemisch mit dem Fleck der Tetrahydroverbindung zusammenfällt. Auch sind vermutlich Spuren von Riboflavin vorhanden, das sich chromatographisch von Sepiapterin nicht trennen läßt (ZIEGLER, 1961c). Dafür spricht, daß der gelbe Fleck während des Fluorometrierens eine leichte, photolytische Labilität zeigte, die bei Sepiapterin nicht auftritt. Dagegen ist sie bei synthetischem Riboflavin (Merck) nach alkalischer Chromatographie feststellbar.

Den quantitativen Verlauf der beiden hydrierten Pterine in den Köpfen der  $\pm$ -, *w*- und *c*-Puppen zeigen die in Abb. 9 dargestellten Trendkurven. Daraus geht hervor, daß das erste Auftreten der Pterine in den Köpfen keineswegs — wie zunächst vermutbar — in die letzten Tage der Metamorphose fällt. Vielmehr handelt es sich um einen relativ stabilen Pterinpegel, der wahrscheinlich aus der Larvalzeit übernommen und während der ganzen Puppenruhe bis knapp vor den Schlüpf-

termin aufrechterhalten wird. Die durchschnittliche Pterinkonzentration in den Köpfen der drei Augenfarbtypen ist während der Puppenruhe ziemlich gleich, aber äußerst gering. Sie beträgt beispielsweise bei der Wildform nur etwa 50% derjenigen am Schlüpftermin. In entsprechender Weise stimmt die quantitative Zusammensetzung des Pteringehaltes, der durch ein Überwiegen der Tetrahydroverbindung charakterisiert ist, in den  $-$ ,  $w$ - und  $c$ -Puppenköpfen überein. Erst vom 10. Puppentag an, das heißt also bei den fast schlüpfreifen Imagines, ist ein unterschiedliches, genbedingtes Verhalten des Pterinpegels feststellbar. Bei der Wildform und  $w$ -Mutante setzt die imaginale Pterinzunahme ein, die im Falle der Ommochrom-freien Augen die charakteristische Verzögerung der Tetrahydroverbindung erkennen läßt (vgl. S. 113). Dagegen verschwinden von diesem Zeitpunkt an die Pterine aus den Köpfen der  $c$ -Mutante, so daß diese beim Ausschlüpfen der Tiere praktisch pterinfrei sind. Vom dritten Imaginaltag an sind keine Pterine mehr nachweisbar.

Die  $c$ -Mutante kann also grundsätzlich Pterine synthetisieren, denn sie zeigt bis knapp vor den Schlüpftermin einen dem  $+$ - und  $w$ -Auge entsprechenden Pterinbestand. Dagegen werden Ommochrome, soweit ihr Auftreten an der gleichzeitig beginnenden Ausfärbung der Augen erkennbar ist, auch während der Puppenruhe nicht gebildet, da das kalkig-weiße Aussehen der Augen unverändert bleibt. Somit entspricht diese Augenfarbmutante den weißäugigen Genotypen *white* und *cinnabar-brown* von *Drosophila melanogaster*, die ebenfalls während der Puppenruhe die dem Wildtyp entsprechenden Pterine in den Augen aufweisen (HADORN und ZIEGLER, 1958). Die Pterinausscheidung aus den Köpfen erfolgt zwar bei den *Drosophila*-Mutanten zu einem etwas früheren Zeitpunkt als bei der  $c$ -Mutante von *Calliphora*. Prinzipiell entsprechen sich aber die Zeitpunkte, da sie in beiden Fällen mit dem Beginn der starken Pterinzunahme im  $+$ -Auge zusammenfallen. Bei

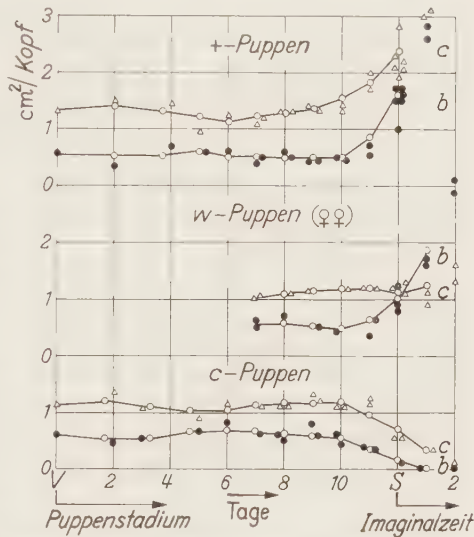


Abb. 9. Gehalt an Sepiapterin (b) und Tetrahydrobiopterin (c) in den Köpfen von  $+$ -,  $w$ - und  $c$ -*Calliphora* während der Puppenruhe. (V Verpuppungstag; S Schlüpftag. Angabe von Trendkurven wie in Abb. 3—8)

*-Drosophila* setzt nämlich die Pterinvermehrung schon am Anfang der zweiten Hälfte der Puppenruhe ein und ist bereits am dritten Imaginaltag abgeschlossen (HADORN und ZIEGLER, 1958; HANDSCHIN, 1961).

Im Zusammenhang mit der oben beschriebenen Pterinausscheidung aus *c*-Köpfen wurden noch folgende Feststellungen gemacht: Abdomina von *c*-Puppen zeigen ein zwar quantitativ geringeres, aber qualitativ mit der Wildform übereinstimmendes Pterinmuster. Dagegen ließen sich in chromatographisch entwickelten Abdominalextrakten älterer *c*-Imagines keine Pterine mehr feststellen. Somit ist anzunehmen, daß die Pterinausscheidung im ganzen Körper erfolgt. Ein entsprechendes Fehlen sämtlicher Körperpterine wurde schon von HADORN und MITCHELL (1951) bei den Imagines der oben erwähnten white-Mutante von *Drosophila* beschrieben.

Die aus dem Körper verschwindenden Pterine werden — wie Untersuchungen an *Drosophila*- (HADORN und KÜRSTEINER, 1955; KÜRSTEINER, 1961) und *Ephesia*-Mutanten (HADORN und EGELHAAF, 1956) zeigten — hauptsächlich mit den Meconien, den Exkreten des Metamorphosestoffwechsels ausgeschieden. Um zu klären, ob diese Befunde auch im Falle der *c*-Mutante zutreffen, wurde die im folgenden beschriebene Pterinanalyse der Meconien von *Calliphora* durchgeführt. Die qualitative Pterinzusammensetzung der  $++$ - und *c*-Meconien ist im wesentlichen gleich. Nach Chromatographie der Meconienextrakte im Butanol-Eisessig-Wasser-System (20:3:7) fallen vorwiegend zwei Flecke durch starke Fluoreszenzintensität auf: das violett fluoreszierende Isoxanthopterin und ein hellblau fluoreszierender Fleck, dessen  $R_F$ -Wert demjenigen von Bipterin und Pterin entspricht. Damit zeigt sich in Übereinstimmung mit früheren Autoren (HADORN und KÜRSTEINER, 1955; KÜRSTEINER, 1961), daß die natürlichen Endprodukte des Pterinstoffwechsels den Hauptanteil der mit den Meconien ausgeschiedenen Pterine darstellen. Vergleicht man nun die Pterinquantität in  $++$ - und *c*-Meconien, so ergibt sich ein Verhältnis von etwa 1:1,5. Die *c*-Fliege scheidet also am Schlüpftag infolge ihres Pterinverlustes rund  $1\frac{1}{2}$ mal soviel Pterine mit den Meconien aus als die  $++$ -Fliege.

Zusammenfassend ist aufgrund dieser Untersuchungen festzustellen, daß die durch das *c*-Gen bedingten Veränderungen im Pteringehalt der Mutante denjenigen entsprechen, die bei *w*-*Drosophila* beschrieben wurden (HADORN und MITCHELL, 1951; HADORN und KÜRSTEINER, 1955; HADORN und ZIEGLER, 1958). Ungeklärt bleibt jedoch, ob der Ausfall der Pterine und Ommochrome in beiden Fällen auf die gleiche Ursache zurückgeht; diese wird für die white-*Drosophila* in der enzymatisch veränderten Trägergranula als dem Ort der strukturgebundenen Endsynthese der Pigmente vermutet (ZIEGLER und JAENICKE, 1959).

#### 4. Analyse des Augenpterinmusters nach Aufzucht und Haltung der Fliegen in völliger Dunkelheit

Die Ommochrom-freien Augen des Weibchens der *w*-Mutante sind gegenüber den Ommochrom-führenden Augen durch eine Gleichgewichtsverschiebung der beiden hydrierten, photolabilen Pterine zugunsten der Dihydroform gekennzeichnet. Da die Dehydrierung des Tetrahydrobiopterins durch Licht sehr leicht erfolgt (ZIEGLER, 1960), wurde die Vermutung geäußert, daß diese Verschiebung die Folge des durch den Ommochrom-Mangel bedingten stärkeren Lichteinfalls wäre (ZIEGLER, 1961a). Demnach müßte sich bei Ausschaltung des Lichtes im Ommochrom-freien Auge das für das Ommochrom-führende Auge charakteristische Verhältnis der photolabilen Pterine einstellen. Diese Folgerung wäre allerdings nur dann richtig, wenn die Pterinzusammensetzung des Ommochrom-führenden Auges durch die bei Normalhaltung der Fliegen gegebene Belichtung unbeeinflußt ist. Es war also das imaginale Pterinmuster von Ommochrom-freien und Ommochrom-führenden Augen nach Aufzucht und Haltung der Tiere in absoluter Dunkelheit zu prüfen.

Als Versuchsraum diente eine durch zwei Lichtschleusen betretbare Klimakammer, in der die Fliegen von der Puppe an unter den üblichen Bedingungen bei völliger Dunkelheit gehalten wurden. Als Lichtquelle bei der Fütterung und Aufarbeitung der Tiere wurde eine mit einem lichtschluckenden Gehäuse versehene „Monla“-Lampe (Leitz) verwendet, deren Licht auf den Rotbereich ( $\lambda > 680 m\mu$ ) gefiltert wurde, in dem die Sehzellen von *Calliphora* keine spektrale Empfindlichkeit mehr zeigen (BURKHARDT, 1962). Die Augenpterinanalyse wurde in der 3. Lebenswoche der Fliegen, also in der Zeit der geringsten Pterinschwankungen im Auge durchgeführt.

In Tabelle 2 sind die Mittelwerte der Meßergebnisse für Ommochrom-führende und Ommochrom-freie Augen zusammengestellt, die sich auf Versuchsserien aus zwei Fliegengenerationen beziehen. Der Augenpterinanalyse von in Dunkelheit aufgewachsenen Fliegen (Dunkelzucht „D“) entspricht jeweils eine parallel aufgearbeitete Pterinbestimmung von

Tabelle 2. *Pteringehalt in den Augen nach Aufzucht der Fliegen des Ommochrom-führenden und Ommochrom-freien Augenfarbtyps in völliger Dunkelheit*

Angabe der Mittelwerte in  $\text{cm}^2/\text{Kopf}$ ;  $n$  = Anzahl der Versuche; weitere Erklärungen s. Text.

| Geno-<br>typ             | n | Blau |     | Sepiapterin |     | Tetrahydrobiopterin |     |
|--------------------------|---|------|-----|-------------|-----|---------------------|-----|
|                          |   | N    | D   | N           | D   | N                   | D   |
| Ommochrom-führende Augen |   |      |     |             |     |                     |     |
| + ♂                      | 3 | 1,3  | 1,4 | 6,5         | 6,3 | 8,6                 | 8,6 |
| + ♀                      | 4 | 0,8  | 0,9 | 4,4         | 4,3 | 5,7                 | 6,0 |
| w ♂                      | 3 | 1,5  | 1,5 | 5,6         | 5,9 | 7,3                 | 8,0 |
| Ommochrom-freie Augen    |   |      |     |             |     |                     |     |
| w ♀                      | 6 | 1,1  | 1,1 | 4,9         | 4,8 | 3,3                 | 3,4 |

Fliegen desselben Zuchtansatzes, die unter gleichen Bedingungen bei Normalbeleuchtung gehalten wurden (Normalzucht „N“). Vergleicht man die Versuchsgruppen „N“ und „D“ des Ommochrom-führenden wie Ommochrom-freien Augenfarbtyps, so zeigen die Mittelwerte der drei getrennt erfaßten Pterinverbindungen nur so geringe Abweichungen, daß eine lichtbedingte Veränderung des Augenpterinmusters auszuschließen ist.

Das den Augenfarbtyp kennzeichnende Verhältnis der photolabilen Pterine stellt sich also unabhängig von Lichtreizen ein und wird durch die bei Normalbedingungen gegebene Lichteinwirkung nicht verändert. Diese Befunde entsprechen einer Mitteilung von BAGLIONI (1959), nach der keine Unterschiede in den Augenpterinmengen von *Drosophila* nach Aufzucht der Tiere bei Licht oder Dunkelheit auftreten.

## 5. Bestrahlungen von Fliegen des Ommochrom-führenden und Ommochrom-freien Augenfarbtyps in verschiedenen Spektralbereichen

Vergleichende Untersuchungen an den drei verschiedenen Augenfarbtypen von *Calliphora* zeigten, daß das Licht auf den Stoffwechsel umgekehrt proportional dem Farbstoffgehalt der Augen wirkt (LANGER und PATAT, 1961). Je weniger Farbstoffe also vorhanden sind, desto mehr Licht gelangt zu den Rezeptoren und desto stärker wird die Energieproduktion in den Augen erhöht.

Von den beiden normalerweise vorhandenen Farbstoffgruppen dienen die Ommochrome als Schutz- und Filterpigmente in den Facettenaugen (BUTENANDT et al., 1960) wie auch elektrophysiologische Untersuchungen (AUTRUM, 1955) und Verhaltensversuche (AUTRUM, 1961b) eindeutig zeigten. Die gleiche Funktion wird den Pterinen im nahen Ultraviolett zugesprochen (BUKCHARDT, 1962), womit aber die Rolle ihrer Photolabilität ungeklärt bleibt.

Letztere Frage wurde mit Hilfe der im folgenden dargestellten Bestrahlungen untersucht. Als Versuchstiere dienten die Wildform von *Calliphora* und ihre *w*-Mutante. Den Bestrahlungen von wildfarbigen, d.h. normal pigmentierten Augen stehen also Versuche an Ommochrom-freien Augen gegenüber. Dabei ist wesentlich, daß das Augenpterinmuster beider Augenfarbtypen in qualitativer Hinsicht übereinstimmt.

Die Bestrahlungen wurden mit den vorne beschriebenen drei Leuchten durchgeführt. Die Strahlungsdosis war so gewählt, daß sie einerseits für die Fliegen noch physiologische Bedingungen darstellte, andererseits aber für das Facettenauge erhöhte Reize bedeutete. Die Bestrahlungsdauer mit der Leuchte des sichtbaren Lichtes betrug in Anlehnung an die Stoffwechseluntersuchungen von LANGER (1960b) in allen Versuchen 4 Std. Dabei entsprach die Strahlungsdichte des Glühlampenlichtes am Bestrahlungsort etwa der Helligkeit einer von der Mittagssonne beschienenen, weißen Wand. Das ergab eine sehr hohe Strahlungsdosis, die aber

von den Fliegen gut vertragen wurde. Dieselbe Dosis diente als Bezug für die vergleichende, energiegleiche Bestrahlung mit dem langwelligen, ultravioletten Spektralbereich von 300—400 m $\mu$ . Dagegen kam das Mischlicht mit vorwiegend ultravioletten Anteilen (254—436 m $\mu$ ) stets vierstündig und damit nicht energiegleich zur Anwendung.

Die Wirkung des Lichtes auf das Augenpterinmuster wurde sowohl bei intakter als auch gehemmter Stoffwechselleistung des Insektenorganismus untersucht. Die Hemmung der Stoffwechselvorgänge wurde sowohl durch Trocknung der Köpfe als auch durch Äther-Tötung der ganzen Tiere erzielt.

### a) Bestrahlung von lebenden Fliegen

Die Bestrahlungen wurden mit Kontrollversuchen verglichen, deren Tiere unmittelbar vor der Aufarbeitung den Zuchtkästen entnommen und mit den bestrahlten Tieren gleichzeitig analysiert wurden.

Die Meßergebnisse des Ommochrom-führenden Augenfarbtyps zeigen sowohl für Männchen und Weibchen der Wildform als auch für Männchen der *w*-Mutante nach Bestrahlung mit sichtbarem Licht (400—750 m $\mu$ ) oder dem Mischlicht des UV-Brenners (254—436 m $\mu$ ) keine Unterschiede gegenüber den entsprechenden Kontrollen. Außerdem ergeben die Versuche, daß sich das Pterininventar aller Ommochrom-haltigen Augen gegenüber intensiver Lichteinwirkung gleichartig verhält. Deshalb werden die Ergebnisse der drei Vertreter des Ommochrom-führenden Augenfarbtyps zusammengefaßt dargestellt (Tabelle 3).

Tabelle 3. *Ergebnisse der Bestrahlungsversuche von Fliegen mit Ommochrom-führenden und Ommochrom-freien Augen, die unter verschiedenen physiologischen Bedingungen der Tiere und in unterschiedlichen Spektralbereichen durchgeführt wurden*

| Spektral-<br>bereich<br><br>m $\mu$ | Lebende Fliegen |          |          |          |          | Gefriergetrocknete<br>Köpfe |          |          |          |          | Verätherte Fliegen |          |          |          |          |
|-------------------------------------|-----------------|----------|----------|----------|----------|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|--------------------|----------|----------|----------|----------|
|                                     | <i>n</i>        | %<br>GvK | %<br>BvK | %<br>SvK | %<br>TvK | <i>n</i>                    | %<br>GvK | %<br>BvK | %<br>SvK | %<br>TvK | <i>n</i>           | %<br>GvK | %<br>BvK | %<br>SvK | %<br>TvK |
| Ommochrom-führender Augenfarbtyp    |                 |          |          |          |          |                             |          |          |          |          |                    |          |          |          |          |
| 400—750                             | 16              | 100      | 96       | 101      | 99       | 12                          | 103      | 101      | 102      | 105      | 5                  | 101      | 125      | 75       | 118      |
| 300—400                             |                 |          |          |          |          | 11                          | 101      | 101      | 99       | 104      |                    |          |          |          |          |
| 254—436                             | 16              | 103      | 101      | 104      | 103      |                             |          |          |          |          | 3                  | 88       | 175      | 70       | 92       |
| Ommochrom-freier Augenfarbtyp       |                 |          |          |          |          |                             |          |          |          |          |                    |          |          |          |          |
| 400—750                             | 6               | 101      | 112      | 86       | 117      | 4                           | 101      | 105      | 87       | 118      | 4                  | 101      | 140      | 47       | 181      |
| 300—400                             | 6               | 96       | 100      | 87       | 105      | 3                           | 96       | 100      | 89       | 105      |                    |          |          |          |          |
| 254—436                             | 6               | 96       | 106      | 91       | 100      |                             |          |          |          |          | 3                  | 81       | 170      | 53       | 100      |

Die Werte sind berechnet aus den Meßwerten der Pterine und geben die mittleren, quantitativen Pterinveränderungen in Prozenten der Kontrolle (K) an. *n* = Anzahl der Versuche; G = Gesamtpterinmenge pro Kopf; B = Fleck Blau; S = Sepiapterin; T = Tetrahydrobiopterin.

Bei den Ommochrom-freien Augen des Weibchens der *w*-Mutante treten signifikante Bestrahlungseffekte im Pterinmuster der Augen auf. Die stärkere Wirksamkeit des Lichtes von 400—750  $m\mu$  machte sich schon während der Bestrahlung selbst bemerkbar, indem die *w*-Weibchen größere Unruhe zeigten als die normal pigmentierten Fliegen.

Aus Tabelle 3 geht hervor, daß sich die Gesamtpterinmenge während der Bestrahlung nicht ändert. Auch tritt keine signifikante Vermehrung der Pterincarbonsäure gegenüber den Kontrollen auf. Es kommt also hier zu keinem Zerfall der photolabilen Substanzen. Infolge der Bestrahlung verringert sich aber die Fluoreszenz des Sepiapterins um etwa den gleichen Betrag, um den die Fluoreszenz der Tetrahydroverbindung vermehrt wird. Die Ab- (15%) sowie die Zunahme (17%) sind gegenüber den Kontrollen mit  $P < 0.0027$  sehr gut statistisch gesichert.

Die Bestrahlung mit Mischlicht mit vorwiegend ultravioletten Anteilen (254—436  $m\mu$ ) zeigt gegenüber der Kontrolle eine 4%ige Verminderung der mittleren Gesamtpterinmenge nach der Bestrahlung (Tabelle 3). Diese kleine Differenz liegt innerhalb der methodischen Fehlerbreite. Immerhin fällt auf, daß alle Werte nach Bestrahlung mit ultraviolettem Licht an der unteren Grenze der Fehlerbreite liegen. Die Meßwerte für Sepiapterin nehmen im Mittel beinahe 10% gegenüber der Kontrolle ab. Die Verminderung ist mit  $P = 0.0004$  signifikant. Dagegen ist die Tetrahydrobiopterinmenge nach Bestrahlung unverändert.

Die Bestrahlung mit den beiden bisher verwendeten Spektralbereichen übt also eine etwas unterschiedliche Wirkung auf das Augenpterinmuster aus. Um die Lichtwirkungen besser differenzieren zu können, wurden energiegleiche Lichtmengen eingestrahlt. Die Erhöhung der Bestrahlungszeit auf  $9\frac{1}{4}$  Std (s. S. 107) wirkte sich aber infolge der kurzwelligen UV-Anteile des Brenners so schädigend auf die Fliegen aus, daß für diese Bestrahlungsversuche nur langwelliges, ultraviolettes Licht von 300—400  $m\mu$  verwendet wurde. Die bei energiegleicher Bestrahlung nach S. 107 nötige Bestrahlungsdauer von  $15\frac{1}{2}$  Std wurde bei ausreichender Fütterung von den Fliegen gut vertragen.

Wie die Ergebnisse (Tabelle 3) zeigen, sind die lichtbedingten Veränderungen des Pterinmusters denjenigen nach Bestrahlung mit dem Mischlicht des UV-Brenners ähnlich. Wiederum tritt eine schwache Verminderung der Gesamtpterinmenge gegenüber der Kontrolle auf, die 4% beträgt. Sie beruht ebenfalls auf den unterschiedlichen Absolutbeträgen von ab- und zunehmender Fluoreszenz der photolabilen Pterine, da die Menge des Fleckes Blau unverändert bleibt. Die Abnahme von Sepiapterin gegenüber der Ausgangsmenge ist mit 13% infolge der höheren Strahlungsdosis etwas stärker; der Unterschied ist mit  $P = 0.003$  gut gesichert.

*b) Bestrahlung von gefriergetrockneten Köpfen*

Die Ergebnisse der Bestrahlungsversuche mit lebenden Tieren ließen vermuten, daß aktive Restitutionsprozesse dazu beitragen, daß das Augenpterinmuster bei erhöhtem Lichtreiz nicht oder — wie im Falle des Weibchens der *w*-Mutante — sehr wenig verändert wird. Um die Möglichkeit der Restitution auszuschließen, wurden für die folgenden energiegleichen Bestrahlungen im sichtbaren und ultravioletten Spektralbereich gefriergetrocknete Köpfe verwendet.

Um autolytische Stoffwechselprozesse zu vermeiden, wurden die Köpfe möglichst schnell nach der Präparation eingefroren und sofort der Gefriertrocknung ausgesetzt. Im eingefrorenen Zustand des Gewebes ist die Viskosität dann so sehr erhöht, daß die Diffusion der Substrate vernachlässigbar ist. Durch die Sublimation des Wassers wird den Köpfen unter möglichst geringer Veränderung ihrer Struktur das Wasser entzogen und so ihr Stoffwechsel blockiert und jeder Restitutionsprozeß verhindert.

In Kontrollversuchen wurde festgestellt, daß die Gefriertrocknung selbst das Pterinmuster der Augen nicht beeinflußt. Gefriergetrocknete Köpfe können somit als geeignetes, homogenes Ausgangsmaterial für Bestrahlungsversuche unterschiedlicher Bestrahlungsdauer betrachtet werden. Als Kontrollen wurden gefriergetrocknete, im Dunkeln aufbewahrte Köpfe verwendet.

Beim Ommochrom-führenden Augenfarbtyp entsprechen die Ergebnisse der Bestrahlungen von gefriergetrockneten Köpfen denjenigen, die nach Bestrahlung lebender Ommochrom-führender Fliegen erhalten werden (Tabelle 3), auch wenn die Bestrahlungsdauer verdoppelt wird (8 Std für die Leuchte des sichtbaren Lichtes und 31 Std für die UV-Leuchte).

Auch gefriergetrocknete Köpfe mit Ommochrom-freien Augen zeigen nach intensiver Lichteinwirkung Veränderungen ihres Pterinmusters, die denjenigen nach Bestrahlung lebender Fliegen sehr ähnlich sind (Tabelle 3). Die nach Bestrahlung mit sichtbarem Licht auftretende Abnahme des Sepiapterins und Zunahme der Tetrahydroverbindung ist ebenfalls sehr gut statistisch gesichert gegenüber den Kontrollen ( $P < 0,001$ ). Nach UV-Bestrahlung erfolgt zwar eine 11%ige Verminderung des Sepiapterins aber keine entsprechende Erhöhung der Tetrahydrobipterinmenge.

*c) Bestrahlung von Äther-getöteten Fliegen*

Die den Normalzuchten entnommenen Fliegen wurden für 45 min in Äthyläther-gesättigte Atmosphäre gebracht. Diese hohe Ätherkonzentration hat für den Insektenorganismus letale Wirkung und zerstört somit die Koordination seiner Stoffwechselvorgänge, ohne aber den Wasserhaushalt des Gewebes zu beeinträchtigen. Der Wiederaufbau der durch Lichteinfall bewirkten Zerfallsprodukte der Pterine ist ebenfalls verhindert.

Kontrollversuche mit Äther-getöteten Fliegen des Ommochrom-führenden und Ommochrom-freien Augenfarbtyps ergaben, daß Äther keine Veränderung des Augenpterinmusters bedingt. Selbst Aufbewahrung der verätherten Tiere im Dunkeln führt zu keiner Pterinveränderung, was dafür spricht, daß diese erst als Folge eines Lichtreizes auftritt. Als Kontrollen für die Bestrahlungen wurden Tiere verwendet, die nach der Verätherung während der Bestrahlungsdauer im Dunkeln aufbewahrt wurden.

Die Bestrahlungen wurden mit sichtbarem Licht und dem Mischlicht des UV-Brenners (254—436 m $\mu$ ) durchgeführt. Die Bestrahlungszeiten waren gleich lang (4 Std), um die Gefahr der Austrocknung des Tiermaterials zu vermeiden, die trotz Feuchthaltung der Versuchskäfige bei sehr unterschiedlichen Bestrahlungszeiten gegeben ist.

Nach Äther-Tötung der Tiere treten auch beim Ommochrom-führenden Augenfarbtyp strahlungsbedingte Veränderungen des Augenpterinmusters auf (Tabelle 3). Nach Bestrahlung mit sichtbarem Licht kommt im wesentlichen die quantitative Verschiebung der beiden photolabilen Pterine zum Ausdruck. Die Zu- wie die Abnahme sind mit  $P < 0.001$  signifikant. Nach UV-Bestrahlung ist hingegen keine Zunahme der Tetrahydroverbindung feststellbar. Dagegen tritt eine deutliche Vermehrung des Fleckes Blau auf. Das bedeutet die Bildung von Pterincarbonensäure, die als Abbauprodukt den Zerfall der hydrierten Pterine anzeigt. Die leichte Verminderung der Gesamtpterinmenge ist statistisch nicht zu sichern.

Beim Ommochrom-freien Augenfarbtyp sind prinzipiell die gleichen Pterinveränderungen vorhanden, die nur in stärkerem Ausmaß auftreten. Nach Bestrahlung mit sichtbarem Licht ist sowohl die Bildung der Pterincarbonensäure signifikant ( $P = 0.004$ ) als auch die Zu- und Abnahme der photolabilen Pterine ( $P < 0.0002$ ). Nach UV-Bestrahlung ist außerdem zum erstenmal eine signifikante ( $P = 0.0027$ ) Verminderung der Gesamtpterinmenge von 19% gegenüber der Kontrolle feststellbar. Als Ursache dafür läßt sich eine durch ultraviolettes Licht bewirkte Zerstörung des Pterinringes vermuten, da alle strahlungsbedingten Zerfallsprodukte mit intaktem Pterinring auf Grund ihrer Fluoreszenz erfaßt werden, wie die Bestrahlungen mit sichtbarem Licht zeigen. Diese Annahme ist um so berechtigter, als der für die Bestrahlung verwendete UV-Brenner seine maximale spektrale Emission im Bereich des kurzwelligen ultravioletten Lichtes hat und die höchste Absorption des Pterinringes ebenfalls zwischen 260 und 280 m $\mu$  liegt.

## IV. Diskussion

### 1. Bedeutung der Pterine für den Sehvorgang

Der bereits veröffentlichte Teil dieser Arbeit (LANGER und PATAT, 1961) zeigt, daß es Facettenaugen ohne Ommochrome und Pterine gibt, die nach elektrophysiologischen Untersuchungen wie normal pigmen-

tierte Augen sehfähig sind (HOFFMANN und LANGER, 1961; BURKHARDT, 1962). Da also die Sehfähigkeit nicht beeinflußt ist, folgt daraus, daß weder Ommochrome noch Pterine in den Sehvorgang eingeschaltet sind. Sie erfüllen somit keine Funktion im Sehprozeß selbst, sondern dienen offenbar lediglich als Filter.

## 2. Die Pterine als Filterpigmente, ihr Gehalt und ihre Entwicklung in den Augen

Der elektrophysiologische Versuch hat gezeigt, daß das Fehlen der Pigmente sowohl eine Erhöhung der Reizempfindlichkeit (AUTRUM, 1955; HOFFMANN und LANGER, 1961), als auch eine Verminderung der Sehschärfe bei schwacher Beleuchtung bewirkt (WASHIZU, BURKHARDT und STRECK, 1964). Auf Grund beider Befunde wird für die Ommochrome und Pterine eine Filterfunktion angenommen.

Wie die vorne beschriebenen qualitativen und quantitativen Untersuchungen der Augenpterine der Wildform und *w*-Mutante von *Calliphora* zeigen, beschränkt sich diese Filterwirkung auf die beiden in vitro labilen Pterine, Sepiapterin und Tetrahydrobiopterin. Eine Beteiligung der Pterincarbonsäure, die in vitro das stabile Oxydationsprodukt dieser photolabilen Pterine darstellt (FORREST und MITCHELL, 1954b; ZIEGLER, 1956, 1960), ist — wie die folgende Diskussion zeigen wird — auszuschließen.

Vergleicht man im einzelnen den quantitativen Pteringehalt in den Köpfen der untersuchten Genotypen, so zeigt der *w*-Genotyp zwei mutationsbedingte, quantitativ erfaßbare Veränderungen. Zunächst fällt auf, daß die Pterinmenge in den Augen beider Geschlechter um 17% verringert ist gegenüber der Wildform. Da meistens die Pterinmenge proportional der Augengröße ist (TAIRA und NAWA, 1959), dürfte diese Pterinreduktion eine sekundäre Folge der geringeren Körpergröße der *w*-Fliegen darstellen. So fand LANGER (unveröff.) eine etwa 20%ige Gewichtsverminderung der *w*-Fliegen gegenüber der Wildform. Eine genbedingte Beeinflussung der Pterinsynthese selbst liegt bei der *w*-Mutante nicht vor. Dafür spricht einerseits die Übereinstimmung der prozentualen Zusammensetzung des Pterinmusters von Wildform und Männchen der *w*-Mutante und andererseits die bei beiden Genotypen gleich große, den Geschlechtsunterschied charakterisierende Verhältniszahl.

Die zweite mutationsbedingte Veränderung im Pteringehalt betrifft nur die weiblichen Augen, in denen sich das *w*-Gen durch den Ausfall der Ommochrome phänotypisch manifestiert. Dieses Fehlen der in reduzierter Form vorliegenden Ommochrome ist begleitet von der quantitativen Verschiebung des Verhältnisses der beiden hydrierten Pterine. Damit wird das im Ommochrom-führenden Auge offenbar vorhandene Gleichgewicht der Pterine zugunsten der wasserstoffärmeren, oxydierten

Form, des Sepiapterins verschoben. Diese Konzentrationsänderung führt aber wiederum zu einem für das Ommochrom-freie Auge charakteristischen, konstanten Verhältnis der hydrierten Pterine.

Die prozentuale Zusammensetzung des Pterinmusters beider Augentypen ist somit nicht variabel, sondern zeigt bestimmte Gesetzmäßigkeiten. Dabei besteht im Falle des Ommochrom-freien Auges insofern eine Anpassung an die mutationsbedingte Veränderung des Augenmaterials, als das Sepiapterin, dessen Absorption bis 480  $m\mu$  reicht, einen Teil der Absorptionsfähigkeit der fehlenden Ommochrome (bei Wellenlängen größer als 400  $m\mu$ ) aufweist. Die Frage jedoch, ob dieser Befund als Ausgleich für die fehlende Filterwirkung der Ommochrome zu deuten ist oder aber seine Ursache in den veränderten Wasserstoff übertragenden Prozessen im Auge hat, bleibt offen.

Bereits ZIEGLER (1961a, 1961b) stellte beim Vergleich der Augenpterine weiblicher — und *w*-Fliegen von *Calliphora* eine Änderung des Mengenverhältnisses der hydrierten Pterine im *w*-Auge fest. Die von ihr angegebene Anhäufung des Sepiapterins auf das Doppelte bis Dreifache der Menge im —-Auge wird durch die quantitativen Ergebnisse dieser Arbeit nicht bestätigt, auch wenn man das schwankende Verhältnis der hydrierten Pterine während der Imaginalentwicklung berücksichtigt. Eine mutationsbedingte Verschiebung im quantitativen Verhältnis zweier Pterinverbindungen, die mit den hydrierten Pterinen identisch sein dürften, wurde ebenfalls bei einem Wildstamm von *Drosophila* und dessen Mutante *ey*<sup>2</sup> beschrieben (GOLDSCHMIDT, 1954).

Im Zusammenhang mit der Zunahme des Pteringehaltes während der Imaginalzeit sind folgende Befunde erwähnenswert. Die am Schlüpfstag vorhandene Menge wird im Laufe der ersten 10 Imaginaltage infolge der starken Vermehrung der hydrierten Pterine auf das Vier- bis Fünffache erhöht. Anschließend ist der Augenpteringehalt mit geringen Schwankungen konstant. Diese Konstanz stimmt zeitlich mit derjenigen von Bau- und Betriebsstoffen im *Calliphora*-Auge überein (LANGER, 1960a). Gleichzeitig verringert sich infolge dieser Stoffwechsel-Stabilisierung die in der ersten Imaginalwoche vorhandene, starke Zunahme des Sauerstoffverbrauchs (HAMMORF und KASCHKE, 1964).

Die geringe Pterinmenge in den ersten Lebenstagen dürfte die Funktion der Augen nicht wesentlich beeinflussen. Dafür spricht, daß das völlige Fehlen der Pterine — wie im Falle der *c*-Mutante — keine entscheidende, stoffwechselphysiologische Schädigung zu verursachen scheint. Infolge der geringeren Pterinmenge könnte nur eine etwas erhöhte Reizempfindlichkeit der Augen im Ultraviolett-Bereich vorhanden sein, die sich auf Grund der zu dieser Zeit mangelnden Betriebsstoffreserven (LANGER, 1960a) auf die Leistungsfähigkeit der Augen auswirkt. Eine gute Filterwirkung ist dagegen im sichtbaren Bereich

des Spektrums schon im frühimaginalen Auge der Wildform gewährleistet. Die Ommochrome zeigen nämlich während der Imaginalzeit nur eine etwa 20%ige Zunahme, die bereits am 4. Imaginaltag abgeschlossen ist (LINZEN, 1963).

Die größte Vermehrung der Ommochrome im Auge erfolgt während der zweiten Hälfte der Puppenruhe (LINZEN, 1963) im Gegensatz zu den Pterinen, deren Zunahme knapp vor dem Ausschlüpfen der Tiere beginnt. Bis zu diesem Zeitpunkt enthalten die Köpfe vom Verpuppungstag an einen annähernd gleichen, minimalen Pterinpegel, der selbst im Falle der *c*-Mutante in entsprechender Höhe gefunden wird.

### 3. Die Stabilität der Pterine in vivo

Die Ergebnisse der in Abschnitt 4 und 5 beschriebenen Versuche zeigen, daß die Pterine im lebenden Auge die gleiche Stabilität wie die Ommochrome besitzen. Dieser Befund gilt auch für die gefriergetrockneten Köpfe, bei denen durch Entzug von Wasser die Labilität der Pterine in vitro ausgeschaltet wird. Die Diskussion über die mit Äther getöteten Tiere, bei denen eine in vitro-Reaktion der Pterine gegeben ist, folgt weiter unten.

Betrachtet man zunächst die Verhältnisse im voll pigmentierten Auge, so ergibt sich kein Unterschied in den Mengen der Pterine, gleichgültig, ob das Auge überhaupt nicht, normal oder mit hoher Intensität belichtet wird. Daraus folgt einerseits, daß sich das Augenpterinmuster unabhängig von jeder Lichteinwirkung entwickelt. In entsprechender Weise stimmt der chemische Aufbau des *Calliphora*-Auges von in Dunkelheit und bei Normalbelichtung aufgezogenen Fliegen überein (LANGER, 1960b). Andererseits zeigt der Befund die Stabilität der Pterine, die — wie im Falle der Baustoffe des Auges (LANGER, 1960b) — nicht nur für die Intensität der Belichtung, sondern auch für deren spektrale Verteilung gefunden wird. In Übereinstimmung damit konnten auch AUTRUM und LANGER (1958) nach Bestrahlung lebender Fliegen chromatographisch kein Auftreten von Pterincarbonsäure in den Augen nachweisen.

Für die verschiedene Stabilität der Pterine in vivo und in vitro spricht außerdem der bei der Augenpterinanalyse von Fliegen der „Dunkelzucht“ erhobene Befund, daß die Pterincarbonsäure auch in diesem Fall in gleicher Höhe gefunden wird. Wäre sie kein Isolierungsartefakt — wie vorne bereits erörtert — so dürfte sie bei diesen Versuchen nicht auftreten. Da sie aber jeweils in gleicher Menge nachzuweisen ist, wird ihr Auftreten als Isolierungsartefakt gestützt.

Lediglich die Ergebnisse der Bestrahlungsversuche von Fliegen mit Ommochrom-freien Augen zeigen geringe, aber doch signifikante Unterschiede gegenüber den jeweiligen Kontrollen.

Läßt man die Versuche mit verätherten Tieren außer Betracht, so zeigt sich, daß die Veränderungen in einer geringen Abnahme des Sepiapterins bestehen, die bei Bestrahlung mit sichtbarem Licht mit einer entsprechenden Zunahme der Tetrahydroverbindung korrespondiert. Die Geringfügigkeit des Effektes zeigt, daß auch das Pterinmuster im Ommochrom-freien Auge noch eine sehr gute Lichtstabilität aufweist. Begünstigt wird diese Stabilität sicher durch das durch die *w*-Mutation nur wenig verschobene Verhältnis der beiden hydrierten Pterine, deren Absolutmengen von gleicher Größenordnung sind und damit in einem Mengenverhältnis um 1 liegen. Dadurch ist eine optimale Pufferung des Systems gegeben.

Versucht man die Ursache für die Abnahme des Sepiapterins und die Zunahme der Tetrahydroverbindung zu diskutieren, so kann dafür keinesfalls die Disproportionierung, die für die hydrierten Pterine *in vitro* nach dem Schema  $2RH_2 = R + RH_4$  möglich wäre, in Frage kommen, da einerseits keine Pterincarbonsäure (R) entsteht und andererseits die Menge des Tetrahydrobiopterins ( $RH_4$ ) doppelt so hoch gefunden wird. Daher muß die Ursache vielmehr in einer photochemischen Stoffwechselreaktion liegen, in deren Verlauf Sepiapterin zur Tetrahydroverbindung aufhydriert wird. Daß diese Hydrierung bei den Versuchen mit langwelligem ultraviolettem Licht mengenmäßig nicht in gleichem Ausmaß erfolgt, erklärt sich mit der größeren photolytischen Empfindlichkeit gegenüber ultraviolettem Licht. So kommt es, daß die mit weniger, aber noch energiereicheren Quanten (254–436 m $\mu$ ) bestrahlten Tiere überhaupt keine Zunahme des Tetrahydrobiopterins aufweisen.

Keinesfalls wird man nach dem Gesagten diese geringen lichtbedingten Veränderungen der hydrierten Pterine im Ommochrom-freien Auge einer „Photolabilität“ der Pterine *in vivo* zuordnen. Dafür spricht die selbst bei Einstrahlung sehr hoher Lichtintensitäten gefundene Stabilität der Pterine im voll pigmentierten Auge.

Als Ursache für die im Ommochrom-freien Auge nicht in vollem Umfang aufrechterhaltene Pterin-Stabilität ließe sich die um den Faktor  $10^3$  erhöhte Reizempfindlichkeit des *w*-Auges vermuten, die im elektrophysiologischen Versuch festgestellt wurde (AUTRUM, 1955). Daraus folgt, daß bei gegebenem Lichtreiz im Vergleich zum Normalauge erheblich größere Lichtmengen zu den Rezeptoren des *w*-Auges gelangen. Entsprechend ist die Energieproduktion bei Bestrahlung stark erhöht (LANGER und PATAT, 1961). Damit übereinstimmend könnte bei Ommochrom-Mangel eine im Auge vorhandene „Stabilisierung“ der hydrierten Pterine einem verstärkten Lichteinfall nicht mehr standhalten. Bei Normalbeleuchtung hingegen ist die Stabilität der Pterine auch im Ommochrom-freien Auge gewährleistet, wie Versuche mit in Dunkelheit aufgewachsenen Fliegen zeigen.

Über den Grund der gefundenen Stabilität der Pterine *in vivo* ergibt sich aus den vorliegenden Versuchen kein Hinweis. Es kann nur ausgeschlossen werden, daß die Stabilität die unmittelbare Folge aktiver Restitutionsprozesse im Auge darstellt, da sie sowohl im lebenden wie gefriergetrockneten Auge festzustellen ist. Da die Pterine *in situ* an Eiweißgranula gebunden sind (HANSER, 1948, 1959; ZIEGLER und JAE-NICKE, 1959), wird wohl in dieser Fixierung der Grund ihrer Stabilität zu suchen sein.

#### 4. Die Augenpterine bestrahlter, Äther-getöteter Fliegen

##### *Ein Beispiel für die in vitro vorhandene Photolabilität der hydrierten Pterine*

Diese Bestrahlungsversuche sind vor allem in methodischer Hinsicht erwähnenswert, da sie zeigen, daß durch die Abtötung mit Äther unübersichtliche Verhältnisse geschaffen werden. Einerseits ist das abgetötete System zwar restitutionsunfähig, andererseits erlaubt aber das wäßrige Milieu weitere *in vitro*-Reaktionen.

So erklären sich die wesentlich größeren, strahlungsbedingten Veränderungen im Pteringehalt, die sowohl im Ommochrom-haltigen als auch im Ommochrom-freien Auge auftreten. Dabei ist besonders der hohe Gehalt an Pterincarbonsäure erwähnenswert als Folge der Photolabilität der hydrierten Pterine *in vitro*. Darüber hinaus zeigen die größeren Pterinverschiebungen im Ommochrom-freien Auge, daß infolge des Ommochrom-Mangels die nach der Abtötung gegebenen, chemischen Folgereaktionen in größerem Maße ablaufen. Dieser Befund könnte auch die geringe Überhöhung der Pterincarbonsäure erklären, die allgemein beim Aufarbeiten Ommochrom-freier Augen gefunden wird. Schließlich bestätigt er nochmals die vorne begründete Annahme, daß die stets nachweisbare Pterincarbonsäure nicht dem Augenpterinmuster zugehört, sondern ein konstanter Aufarbeitungsartefakt ist.

Die „photolabilen“ Pterine weisen also in einem lebenden System große Stabilität auf. Somit können sie im Facettenauge in Ergänzung der Ommochrome die Aufgabe von Schutz- und Filterpigmenten im Ultraviolettbereich erfüllen, ohne dabei durch Licht abgebaut zu werden oder auf aktive Stoffwechselleistungen der Zelle angewiesen zu sein.

#### Zusammenfassung

Mittels Papierchromatographie und Fluoreszenzmessung werden die Augenpterine der Wildform, *w*- und *c*-Mutante von *Calliphora erythrocephala* untersucht und ihr photolytisches Verhalten im sichtbaren und ultravioletten Spektralbereich geprüft. Daraus ergibt sich:

1. Die Augen der Wildform und *w*-Mutante enthalten nur Sepiapterin und Tetrahydrobiopterin.

2. Die Imaginalaugen der *c*-Mutante sind pterinfrei.
3. Die beiden Pterine sind im Gegensatz zu ihrem *in vitro*-Verhalten *in situ* photostabil.
4. Die Pterine sind nicht in den Sehvorgang eingeschaltet, sondern wirken als Filter.
5. Die Pterinmenge ist in den *w*-Augen um 17% verringert gegenüber der Wildform.
6. Bei der Wildform und *w*-Mutante verhält sich die Pterinmenge von männlichen zu weiblichen Augen wie 3:2.
7. Im Ommochrom-führenden Auge ist das Verhältnis von Sepiapterin zu Tetrahydrobiopterin durch ein Überwiegen der Tetrahydroverbindung gekennzeichnet, während im Ommochrom-freien Auge eine quantitative Verschiebung dieses Verhältnisses zugunsten des Sepiapterins auftritt.
8. Die Menge der Pterine ist am Schlüpftag gering und wird während der ersten 10 Imaginaltage auf das Vier- bis Fünffache im Auge erhöht. Dann bleibt sie mit geringen Schwankungen konstant.
9. Während der ganzen Metamorphose zeigen die Köpfe der Wildform und *w*-Mutante einen sehr geringen, relativ konstanten Gehalt an hydrierten Pterinen, deren Vermehrung erst knapp vor dem Ausschlüpfen der Imago beginnt.
10. Ein entsprechender Pterinpegel wird auch in den Puppenköpfen der *c*-Mutante gefunden, aus denen aber die Pterine zur Zeit des Schlüpftermins verschwinden.
11. Der Pteringehalt von Ommochrom-freien und Ommochrom-führenden Augen zeigt nach Aufzucht und Haltung der Fliegen bei völliger Dunkelheit keine Veränderung, denn er entspricht demjenigen von bei Normalbeleuchtung gehaltenen Fliegen.
12. Die Bestrahlungsergebnisse stimmen bei lebenden Fliegen und gefriergetrockneten Köpfen überein.
13. Die Bestrahlung Äther-getöteter Fliegen führt zu abweichenden Ergebnissen, die nicht stichhaltig sind, da nach Äther-Tötung *in vitro*-Reaktionen der Pterine gegeben sind.

### Summary

The photolytic behaviour of the eye pterines of the wild, white and chalky genotypes of *Calliphora erythrocephala* in visible and ultra-violet light was investigated through the use of paper chromatography and fluorescence measurements.

1. The eyes of the wild-type and of the mutant white contain only sepiapterine and tetrahydrobiopterine.
2. The imaginal eyes of the mutant chalky contain no pterines at all.

3. In contrast to their in vitro behaviour, both sepiapterine and tetrahydrobiopterine are photostable in situ.

4. These pterines are not engaged in the visual process but rather serve a screening function.

5. The quantity of pterines in the eyes of the mutant white is 17% smaller than in wild-type eyes.

6. In both the wild-type and mutant white the ratio of the quantity of pterines in male to female eyes is 3:2.

7. Eyes with ommochromes are characterized by a higher proportion of tetrahydrobiopterine than of sepiapterine, whereas this proportion shifts in favour of sepiapterine in eyes without ommochromes.

8. The quantity of pterines on the day of the imaginal moult is small, but it increases to four or five times the original level during the next ten days and then remains nearly constant.

9. During the entire metamorphosis the heads of the wild-type and of the mutant white show a small but relatively constant amount of hydrated pterines which begin to increase shortly before the imago emerges.

10. A corresponding pterine level is also found in the pupal heads of mutant chalky, but these pterines disappear at the time of emergence.

11. Breeding and raising the flies in total darkness has no effect on the pterine level of their eyes, whether they have ommochromes or not. The quantity and proportion of pterines is the same as in eyes which develop under normal illumination.

12. Irradiation experiments on freeze-dried heads yield the same results as on living flies; whereas the results of irradiating ether-killed flies are different from these and misleading.

### Literatur

- ALBERT, A.: Photo-reduction of pteridines. *Nature* (Lond.) **178**, 1072 (1956).
- AUTRUM, H.: Die spektrale Empfindlichkeit der Augenmutation white-apricot von *Calliphora erythrocephala*. *Biol. Zbl.* **74**, 515 (1955).
- Vergleichende Physiologie des Farbensehens. *Fortschr. Zool.* **12**, 176—205 (1960).
- Physiologie des Sehens. *Fortschr. Zool.* **13**, 257—302 (1961a).
- Die Sehschärfe pigmentfreier Fazettenaugen von *Calliphora erythrocephala*. *Biol. Zbl.* **80**, 1—4 (1961b).
- , u. H. LANGER: Photolabile Pterine im Auge von *Calliphora erythrocephala*. *Biol. Zbl.* **77**, 196—201 (1958).
- BAGLIONI, C.: Two new pteridinic pigments. *Experientia* (Basel) **15**, 465 (1959).
- BECKER, E.: Über Eigenschaften, Verbreitung und die genetisch entwicklungsphysiologische Bedeutung der Pigmente der Ommatin- und Ommingruppe (Ommochrome) bei den Arthropoden. *Z. induct. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **80**, 157—204 (1942).
- BOWNESS, J. M., and J. J. WOLKEN: A light-sensitive yellow pigment from the house-fly. *J. gen. Physiol.* **42**, 779 (1959).

- BRIGGS, M. H.: Retinine I in insect tissues. *Nature (Lond.)* **192**, 874—875 (1961).
- BURKHARDT, D.: Spectral sensitivity and other response characteristics of single visual cells in the arthropod eye. *Symp. Soc. exp. Biol.* **16**, 86—109 (1962).
- , u. CH. HOFFMANN: Untersuchungen zur spektralen Empfindlichkeit des Insektenauges. *Dtsch. zool. Ges.* **55**, 181—185 (1961).
- BUTENANDT, A.: Über Ommochrome, eine Klasse natürlicher Phenoxazonfarbstoffe. *Angew. Chem.* **69**, 16—23 (1957).
- E. BIEKERT u. B. LINZEN: Über Ommochrome. 13. Isolierung und Charakterisierung von Ommine. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **312**, 227—236 (1958a).
- — — 14. Zur Verbreitung der Ommine im Tierreich. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **313**, 251—258 (1958b).
- — H. KÜBLER u. B. LINZEN: Über Ommochrome. 20. Zur Verbreitung der Ommatine im Tierreich. Neue Methoden zu ihrer Identifizierung und quantitativen Bestimmung. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **319**, 238 (1960).
- EGELHAAF, A.: Photolabile Fluoreszenzstoffe bei *Ephesia kühniella*. *Naturwissenschaften* **43**, 309 (1956).
- Über das Wirkungsmuster des a-Locus von *Ephesia kühniella*. *Z. Vererbungsl.* **94**, 349—384 (1963).
- FISCHER, L. R., and E. H. GOLDIE: The eye-pigments of an euphausiid crustacean *Meganyctiphanes norvegica*. *Proc. Int. Congr. Zool.* **15**, 533 (1959).
- FORREST, H. S.: Pteridines: structure and metabolism. In: *Comparative Biochemistry*, vol. IV, p. 615. New York and London: Academic Press 1962.
- FORREST, H. S., and H. K. MITCHELL: Pteridines from *Drosophila*. I. Isolation of a yellow pigment. *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 5656—5658 (1954a).
- — II. Structure of the yellow pigment. *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 5658—5662 (1954b).
- GEBELEIN, H., u. H. J. HEITE: *Statistische Urteilsbildung*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951.
- GROSSBACH, U.: Zur papierchromatographischen Untersuchung von Lepidopteren-Augen. *Z. Naturforsch.* **12b**, 462 (1957).
- GOLDSCHMIDT, E.: Fluorescent substances in chromatograms of a mutant stock of *Drosophila*. *Nature (Lond.)* **174**, 883 (1954).
- GOLDSMITH, T. H.: On the visual system of the bee (*Apis mellifica*). *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **74**, 223—229 (1958).
- , and L. T. WARNER: Vitamin A in the vision of insects. *J. gen. Physiol.* **47**, 433—441 (1964).
- HADORN, E., u. A. EGELHAAF: Biochemische Polyphänie und Stoffverteilung im Körper verschiedener Augenfarbgenotypen von *Ephesia kühniella*. *Z. Naturforsch.* **11b**, 21—25 (1956).
- , u. A. KÜHN: Chromatographische und fluorometrische Untersuchungen zur biochemischen Polyphänie von Augenfarbgenen bei *Ephesia kühniella*. *Z. Naturforsch.* **8b**, 582—585 (1953).
- , u. R. KÜRSTEINER: Unterschiede in Exkretstoffen bei verschiedenen Genotypen von *Drosophila melanogaster*. *Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch.* **30**, 494—498 (1955).
- , and H. K. MITCHELL: Properties of mutants of *Drosophila melanog.* and changes during development as revealed by paper chromatography. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **37**, 650—665 (1951).
- , u. I. ZIEGLER: Untersuchungen zur Entwicklung, Geschlechtsspezifität und phänotypischen Autonomie der Augen-Pterine verschiedener Genotypen von *Drosophila mel.* *Z. Vererbungsl.* **89**, 221—234 (1958).

- HAMDORF, K., u. A. H. KASCHEF: Der Sauerstoffverbrauch des Facettenauges von *Calliphora erythrocephala* in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Ionenmilieu. Z. vergl. Physiol. **48**, 251—265 (1964).
- HANDSCHIN, G.: Entwicklungs- und organspezifische Verteilungsmuster der Pterine bei einem Wildstamm und bei der Mutante *rosy*<sup>2</sup> von *Drosophila mel.* Develop. Biol. **3**, 115—139 (1961).
- HANSER, G.: Über die Histogenese der Augenpigmentgranula bei verschiedenen Rassen von *Ephestia kühniella* und *Ptychopoda seriata*. Z. indukt. Abstamm.-u. Vererb.-L. **82**, 74—97 (1948).
- Genphysiologische Untersuchungen an der w-Mutante von *Calliphora erythrocephala*. Z. Naturforsch. **14b**, 194—201 (1959).
- HOFFMANN, CH., u. H. LANGER: Die spektrale Augenempfindlichkeit der Mutante „chalky“ von *Calliphora erythrocephala*. Naturwissenschaften **48**, 605 (1961).
- KAMPA, E. M.: Euphausiopsin, a new photosensitive pigment from eyes of euphausiid crustaceans. Nature (Lond.) **175**, 996 (1955).
- KÜHN, A.: Ein Fluorometer für Papierchromatogramme. Naturwissenschaften **42**, 529 (1955).
- KÜRSTEINER, R.: Über die fluoreszierenden Stoffe (Pterine) in den Meconien der Wildrasse und der Mutante white und *rosy*<sup>2</sup> von *Drosophila mel.* J. Insect Physiol. **7**, 5—31 (1961).
- LANGER, H.: Über den chemischen Aufbau des Facettenauges von *Calliphora erythrocephala* MEIG. und seine Veränderungen mit dem Imaginalalter. Z. vergl. Physiol. **42**, 595—626 (1960a).
- Die Wirkung von Licht auf den chemischen Grundaufbau des Auges von *Calliphora erythrocephala* MEIG. J. Insect Physiol. **4**, 283—303 (1960b).
- Untersuchungen über die Größe des Stoffwechsels isolierter Augen von *Calliphora erythrocephala* MEIGEN. Biol. Zbl. **81**, 691—720 (1962).
- The phosphate metabolism of the faceted eye in light and in darkness. Proc. XVIth Internat. Congr. Zool. **2**, 37 (1963).
- , u. U. PATAT: Über die Bedeutung einer neuen Augenfarbmutante von *Calliphora erythrocephala* MEIG. für die Untersuchung der Funktion des Facettenauges. Verh. dtsh. zool. Ges. **1961**, 174—180 (1961).
- LINSKENS, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- LINZEN, B.: Über die Verbreitung der Ommochrome, der dunklen Augenpigmente der Arthropoden. Verh. dtsh. zool. Ges. **1958**, 154—161 (1958).
- Eine spezifische quantitative Bestimmung des 3-Hydroxy-kynurenins. 3-Hydroxy-kynurenin und Xanthommatin in der Imaginalentwicklung von *Calliphora*. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **333**, 145—148 (1963).
- MÖHLMANN, E.: Chromatographische Untersuchungen an verschiedenen Genotypen von *Plodia interpunctella* im Vergleich mit anderen Schmetterlingsarten. Z. Vererbungsl. **89**, 651 (1958).
- NAWA, S.: The structure of the yellow pigment from *Drosophila*. Bull. chem. Soc. jap. **33**, 1555—1560 (1960).
- NOLTE, D. J.: The eye-pigmentary system of *Drosophila*. VII. The white locus. Heredity **13**, 219—231 (1959a).
- VIII. Series of multiple alleles. Heredity **13**, 233—241 (1959b).
- IX. Heterozygous effects of eye-colour genes. Heredity **13**, 273—281 (1959c).
- PÄTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Meßreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152—168 (1943).
- PFLEIDERER, W.: Neuere Entwicklungen in der Pteridinchemie. Angew. Chem. **75**, 993—1011 (1963).

- REISENER-GLASEWALD, E.: Über die Entwicklung des Bestandes an fluoreszierenden Stoffen in den Köpfen von *Ephesia kühn.* in Abhängigkeit von verschiedenen Augenfarben. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **87**, 668—693 (1956).
- TAIRA, T., and S. NAWA: A note on pigmentation in the eye. *Drosophila Inform. Serv.* **33**, 167 (1959).
- TATE, P.: A sex-linked and sex-limited white-eyed mutation of the blowfly (*Calliphora erythrocephala*). J. Genet. (Lond.) **48**, 176—191 (1947).
- WALD, G., and R. HUBBARD: Visual pigment of a decapod crustacean: the lobster. Nature (Lond.) **180**, 278 (1957).
- WASHIZU, Y., D. BURKHARDT, and P. STRECK: Visual field of single retinula cells and interommatidial inclination in the compound eye of the blowfly *Calliphora erythrocephala*. Z. vergl. Physiol. **48**, 413—428 (1964).
- WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik. Jena: Gustav Fischer 1948.
- WEBER, H.: Grundriß der Insektenkunde. Stuttgart: Gustav Fischer 1954.
- WOLKEN, J. J., J. M. BOWNESS, and I. J. SCHEER: The visual complex of the insect: retinine in the housefly. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **43**, 531—537 (1960).
- , and I. J. SCHEER: An eye pigment of the cockroach. Exp. Eye Res. **2**, 182—188 (1963).
- ZIEGLER, I.: Untersuchungen über die photolabilen Pterine in der Haut der Amphibien und in den Augen von *Drosophila melanogaster*. Z. Naturforsch. **11b**, 493—500 (1956).
- Tetrahydrobiopterin-Derivat als lichtempfindliche Verbindung bei Amphibien und Insekten. Z. Naturforsch. **15b**, 460—465 (1960).
- Zur genphysiologischen Analyse der Pterine im Insektenauge (*Drosophila melanogaster* und *Calliphora erythrocephala*). Z. Vererbungsl. **92**, 239—245 (1961a).
- Genetic aspects of ommochrome and pterin-pigments. Advanc. Genet. **10**, 349—395 (1961b).
- Quantitative Bestimmung von gelbem Pterin und Riboflavin in der Haut des Feuersalamanders (*Salamandra salamandra*). Biochem. Z. **334**, 425—430 (1961c).
- Tetrahydropterin und Melanophoren-Differenzierung bei Fischen. Z. Naturforsch. **18b**, 551—556 (1963a).
- Reinigung des Tetrahydropterins aus Insektenaugen. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **78**, 219—220 (1963b).
- , u. E. HADORN: Manifestation rezessiver Augenfarbgene im Pterininventar heterozygoter Genotypen von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungsl. **89**, 235—245 (1958).
- , u. L. JAENICKE: Zur Wirkungsweise des white-Allels bei *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungsl. **90**, 53—61 (1959).

URSULA PATAT

Physiologisch-chemisches Institut der Universität  
8000 München 15, Goethestr. 33

## Lebenslauf

Am 21. 7. 1935 wurde ich, URSULA PATAT, als Tochter des Chemikers Dr. FRANZ PATAT und seiner Ehefrau ELISABETH, geb. GOEKER, in Wien geboren.

Von 1941—1945 besuchte ich die Volksschule in Höchst bei Frankfurt am Main, von 1946—1947 das Mädchengymnasium in Innsbruck, von 1947—1952 das Mädchengymnasium in Basel und von 1952 an die Mädchenoberschule in Hannover, in der ich im März 1955 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1955 begann ich an der Universität Innsbruck mit dem Studium der Zoologie, Chemie und Mikrobiologie, das ich im Wintersemester 1955/56 an der Universität München fortsetzte. Im Herbst 1958 erhielt ich von Herrn Prof. Dr. H. AUTRUM das Thema der vorliegenden Dissertation. Mit ihrer intensiven Ausarbeitung konnte ich jedoch erst im Herbst 1960 beginnen, da ich bis dahin infolge einer schweren Erkrankung meiner Mutter durch die mir dadurch zufallende Haushaltsführung sehr belastet war.

